

UNIVERSIDAD DE CUENCA



**Facultad de Ciencias Químicas
Carrera de Ingeniería Química**

Síntesis solvotermal de nanopartículas de Zn, Fe y Ag encapsulados en matriz de Capsaicina-PVA-Quitosano para su potencial uso en fungicidas orgánicos.

Trabajo de titulación previo
a la obtención del título de
Ingenieros Químicos

Autores:

Saca Zúñiga Juan Carlos
C.I. 0104228507

Segarra Urgiléz Andrea Estefanía
C.I. 0105971204

Director:

Lic. Christian Américo Cruzat Contreras Ph. D
C.I. 0107985681

Cuenca-Ecuador

18/09/2019

¹ Saca Zúñiga Juan Carlos

² Segarra Urgiléz Andrea Estefanía



RESUMEN

Para esta investigación, se obtuvo nanopartículas mediante la incorporación de los precursores de nanopartículas Zn-Ag con adición de nanopartículas de hierro previamente sintetizadas por coprecipitación química, en un reactor solvotérmico. Las nanopartículas se caracterizaron por Microscopía Electrónica de Transmisión (MET), Espectroscopía UV-Visible y Espectroscopía Infrarroja con transformadas de Fourier (IRTF). Con MET se observó morfología regular de nanopartículas y tamaño promedio de 17 y 64 nm. Paralelamente, se utilizó el Método Soxhlet para la obtención del extracto del ají criollo (*Capsicum annum*), para lo cual se ensayó el fruto por partes, en lo cual se determinó que la mayor concentración de capsaicina se encuentra en la placenta del fruto, con un 94,33 % de extracción y una concentración final de 4900 ppm, lo cual fue determinado mediante UV-Vis. Consecuentemente, se incorporó los principios activos en la matriz polimérica de Polivinil Alcohol (4 %) – Quitosano (2 %) 1:1 % p/p. Para la obtención de nanofibras, se utilizó condiciones de electrohilado: 17,5 V; 10 cm de distancia del tambor y 0,3 ml/h de alimentación. Mediante MEB se determinó que las nanofibras tienen diámetros comprendidos entre 30 y 70 nm. Las nanofibras se ensayó estudios de liberación y se evaluó la cinética de liberación de lo cual se obtuvo que, la capsaicina y nanopartículas se libera en pH neutros e inferiores, siguiendo el modelo de Korsmeyer y Peppas y Schott respectivamente.

Palabras Clave: Nanopartículas Zn-Ag-Fe. Solvothermal. Coprecipitación química. Capsaicina. Electrohilado. Nanofibras. Fungicida orgánico. Cinética de liberación.

¹ Saca Zúñiga Juan Carlos

² Segarra Urgiléz Andrea Estefanía



ABSTRACT

For this research, the nanoparticles were obtained adding Zn-Ag nanoparticle precursors with addition of iron nanoparticles previously synthesized by chemical coprecipitation, into a solvothermal reactor. The nanoparticles were characterized by Transmission Electron Microscopy (MET), UV-Visible Spectroscopy and Infrared Spectroscopy with Fourier Transforms (IRTF), Using MET characterization was observed nanoparticles with regular morphology and an average particle size of 17 and 64 nm. Concurrently, the Soxhlet Method was used to obtain the extract of the criollo pepper (*Capsicum annum*), for the extraction various parts of the fruit were tested. The highest concentration of capsaicin was founded in the placenta of the fruit, with 94.33% extraction and a final concentration of Capsaicin of 4900 ppm, which was determined by UV- Vis. Consequently, the nanoparticles and capsaicin were carried out in a polymer matrix of Polyvinyl Alcohol (4%) - Chitosan (2%) 1:1 %w/w, To obtain the nanofibers, experimentation conditions were used: 17.5 V; 10 cm away from the drum and 0.3 ml / h feed. The nanofibers were characterized by SEM, resulting in a diameter of fibers between 30 and 70 nm. Finally, the nanofibers were tested by release studies and the release kinetics were evaluated, from which it was obtained that capsaicin and nanoparticles are released at neutral and lower pH, following Korsmeyer and Peppas and Schott kinetic model respectively.

Keywords: Zn-Ag-Fe nanoparticles. Solvothermal. Chemical coprecipitation. Capsaicin. Electrospinning. Nanofibers. Organic fungicide. Release kinetic.

¹ Saca Zúñiga Juan Carlos

² Segarra Urgiléz Andrea Estefanía



ÍNDICE

RESUMEN	2
ABSTRACT.....	3
DEDICATORIA	12
AGRADECIMIENTOS	13
ÍNDICE DE ECUACIONES	5
ÍNDICE DE ILUSTRACIONES.....	5
ÍNDICE DE IMÁGENES	6
ÍNDICE DE TABLAS.....	6
INTRODUCCIÓN.....	14
OBJETIVOS.....	17
OBJETIVO GENERAL:	17
OBJETIVOS ESPECÍFICOS:.....	17
MARCO TEÓRICO.....	18
NANOTECNOLOGÍA	18
SÍNTESIS DE NANOPARTÍCULAS	18
Método Solvothermal.....	19
Coprecipitación química.....	21
NANOPARTÍCULAS METÁLICAS.....	22
Nanopartículas de Zinc	23
Nanopartículas de Plata.....	23
Nanopartículas de Hierro	24
NANOCOMPUESTOS: FIBRAS ELECTROHILADAS	25
Electrohilado	25
EXTRACTOS NATURALES	30
Capsaicina.....	30
Métodos de extracción.....	32
POLÍMEROS	35
Polivinil Alcohol (PVA).....	35
Quitano	36
ESTUDIOS DE LIBERACIÓN.....	38
Cinética de liberación en modelos matemáticos	39
METODOLOGÍA.....	40
EQUIPOS, MATERIALES Y REACTIVOS	40
SÍNTESIS DE NANOPARTÍCULAS DE Zn-Ag-Fe	42
Síntesis por coprecipitación química de nanopartículas de Fe	42
Síntesis solvothermal de nanopartículas de Zn-Ag-Fe.....	43

¹ Saca Zúñiga Juan Carlos

² Segarra Urgiléz Andrea Estefanía



EXTRACCIÓN Y CONCENTRACIÓN DE CAPSAICINA	44
Pretratamiento de la muestra	44
Extracción de capsaicina por el método Soxhlet	45
Extracción de capsaicina por maceración	46
Concentración de capsaicina	46
ENCAPSULACIÓN DE NANOPARTÍCULAS Y CAPSAICINA EN FIBRAS DE PVA/QUITOSANO	47
ESTUDIOS DE LIBERACIÓN DE NANOFIBRAS	50
Modelado matemático de la cinética de liberación	50
CARACTERIZACIÓN DE NANOPARTÍCULAS Y NANOFIBRAS	51
Identificación de capsaicina y nanopartículas por Espectroscopía UV-Visible	52
Caracterización por espectroscopía Infrarroja con Transformada de Fourier (IRTF)	52
Microscopía electrónica de barrido (MEB)	53
Microscopía electrónica de transmisión (MET)	53
RESULTADOS Y DISCUSIÓN	54
SÍNTESIS DE NANOPARTÍCULAS DE Zn-Ag-Fe	54
Síntesis por coprecipitación química de nanopartículas de Fe	54
Síntesis solvotermal de nanopartículas de Zn-Ag-Fe	56
EXTRACCIÓN Y CONCENTRACIÓN DE CAPSAICINA	58
Extracción de capsaicina por el método Soxhlet	59
Extracción de capsaicina por el método de maceración	60
OBTENCIÓN DE NANOFIBRAS EN ELECTROHILADO	61
CARACTERIZACIÓN DE PRODUCTOS OBTENIDOS	63
Análisis UV-Visible	63
Análisis de Microscopía electrónica de transmisión MET	69
Análisis de Microscopía electrónica de barrido MEB	74
ESTUDIOS DE LIBERACIÓN	76
Liberación de Capsaicina	77
Liberación de nanopartículas	78
Ajuste de los modelos matemáticos	79
CONCLUSIONES	81
RECOMENDACIONES	82
REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS	83

ÍNDICE DE ECUACIONES

Ecuación 1. Obtención de Nps-Fe como magnetita	42
Ecuación 2. Reacción de obtención de nitrato de zinc	43
Ecuación 3. Porcentaje de extracción del ají criollo	46

ÍNDICE DE ILUSTRACIONES

Ilustración 1. Reactor Solvotermal	20
Ilustración 2. Proceso de electrohilado	26
Ilustración 3. Estructura química de la capsaicina	31
Ilustración 4: Estructura química de la dehidrocapsaicina	31

¹ Saca Zúñiga Juan Carlos

² Segarra Urgiléz Andrea Estefanía

Ilustración 5. Extracción por Soxhlet.....	34
Ilustración 6. Extracción de capsaicina por maceración.....	35
Ilustración 7. Estructura molecular del PVA (a) parcialmente y (b) completamente hidrolizado.....	36
Ilustración 8. Estructura química del quitosano	37
Ilustración 9. Síntesis de Nps-Fe por coprecipitación química.....	43
Ilustración 10. Partes del ají criollo.....	45
Ilustración 11. Extracción y concentración de capsaicina	47
Ilustración 12. Proceso de obtención de nanofibras	49
Ilustración 13. Curva de calibración de nanopartículas	65
Ilustración 14. Curva de calibración de capsaicina Obtenido de: CEA.....	66
Ilustración 15. Dispersión de tamaño de nanopartículas sintetizadas en una sola fase	70
Ilustración 16. Dispersión de tamaño de nanopartículas sintetizadas en dos fases.....	71
Ilustración 17. Liberación de capsaicina	77
Ilustración 18. Liberación de nanopartículas	78

ÍNDICE DE IMÁGENES

Imagen 1. a. Síntesis Nps por coprecipitación y b. producto obtenido en la síntesis.....	54
Imagen 2. Magnetismo de las Nps-Fe.....	55
Imagen 3. Síntesis solvotermal, horno con autoclave	56
Imagen 4. Fibras obtenidas en electrohilado.....	63
Imagen 5. Espectro UV-Vis nanopartículas.....	64
Imagen 6. Espectro UV-Vis de capsaicina.....	65
Imagen 7. Espectro IR Nps Zn-Ag-Fe en una fase	68
Imagen 8. Espectro IR Nps Zn-Ag-Fe en dos fases.....	69
Imagen 9. Micrografías MET síntesis nanopartículas una fase	69
Imagen 10. Micrografías MET síntesis nanopartículas dos fases	71
Imagen 11. SAED de nanopartículas Zn-Ag-Fe	72
Imagen 12. Nanofibras PVA-Quitano	74
Imagen 13. Nanofibras PVA-Quitano + capsaicina.....	75
Imagen 14. Nanofibras PVA-Quitano + nanopartículas	76
Imagen 15. Nanofibras PVA-Quitano + capsaicina + nanopartículas	76

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1. Reactivos y materiales.....	40
Tabla 2. Equipos utilizados en la investigación.....	41
Tabla 3. Ensayos realizados para extracción de capsaicina del ají criollo	45
Tabla 4. Soluciones ensayadas para electrohilado	48
Tabla 5. Parámetros ensayados en electrohilado	48
Tabla 6. Descripción del contenido de las fibras	48
Tabla 7. pH ensayados en los estudios de liberación.....	50
Tabla 8. Modelos cinéticos empleados para los estudios de liberación	50
Tabla 9. Técnicas de cuantificación y caracterización empleadas	51
Tabla 10. Resultados de coprecipitación	54

¹ Saca Zúñiga Juan Carlos

² Segarra Urgiléz Andrea Estefanía



Tabla 11. Rendimientos obtenidos en la coprecipitación	55
Tabla 12. Resultado de observaciones síntesis Nps Zn-Ag-Fe	56
Tabla 13. Características organolépticas ají criollo pre-extracción	58
Tabla 14. Características observadas en el extracto de capsaicina.....	59
Tabla 15. Porcentaje de extracción de capsaicina en ají criollo.....	59
Tabla 16. Características del extracto de ají concentrado	60
Tabla 17. Porcentaje de extracción de capsaicina por maceración	60
Tabla 18. Parámetros experimentales de electrohilado	61
Tabla 19. Características de las fibras obtenidas.....	61
Tabla 20. Picos de absorción de referencia en síntesis de nanopartículas	63
Tabla 21. Cuantificación del extracto de capsaicina obtenido por Soxhlet	66
Tabla 22. Resultados de capsaicina concentrada de placenta de ají criollo.....	67
Tabla 23. Cuantificación del extracto de capsaicina obtenido por maceración .	67
Tabla 24. Picos IR de referencia en síntesis de nanopartículas	68
Tabla 25. Resumen dispersión nanopartículas sintetizadas en una fase.....	70
Tabla 26. Resumen dispersión nanopartículas sintetizadas en dos fases.....	71
Tabla 27. Espacio recíproco obtenido en los SAED de nanopartículas sintetizadas	73
Tabla 28. Índices de Miller obtenidos mediante medición de anillos presentes en los SAED de nanopartículas.....	73
Tabla 29. Coeficiente de correlación ajustado a la liberación de capsaicina.....	79
Tabla 30. Coeficiente de correlación ajustado a la liberación de nanopartículas	80

¹ Saca Zúñiga Juan Carlos

² Segarra Urgiléz Andrea Estefanía

**Cláusula de licencia y autorización para publicación en el Repositorio
Institucional**

Saca Zúñiga Juan Carlos en calidad de autor y titular de los derechos morales y patrimoniales del trabajo de titulación "Síntesis solvotermal de nanopartículas de Zn, Fe y Ag encapsulados en matriz de Capsaicina-PVA-Quitano para su potencial uso en fungicidas orgánicos", de conformidad con el Art. 114 del CÓDIGO ORGÁNICO DE LA ECONOMÍA SOCIAL DE LOS CONOCIMIENTOS, CREATIVIDAD E INNOVACIÓN reconozco a favor de la Universidad de Cuenca una licencia gratuita, intransferible y no exclusiva para el uso no comercial de la obra, con fines estrictamente académicos.

Asimismo, autorizo a la Universidad de Cuenca para que realice la publicación de este trabajo de titulación en el repositorio institucional, de conformidad a lo dispuesto en el Art. 144 de la Ley Orgánica de la Educación Superior.

Cuenca, 18 de diciembre de 2019.



Saca Zúñiga Juan Carlos

C.I. 0104228507

¹ Saca Zúñiga Juan Carlos

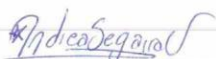
² Segarra Urgiléz Andrea Estefanía

**Cláusula de licencia y autorización para publicación en el Repositorio
Institucional**

Segarra Urgiléz Andrea Estefanía en calidad de autora y titular de los derechos morales y patrimoniales del trabajo de titulación "Síntesis solvothermal de nanopartículas de Zn, Fe y Ag encapsulados en matriz de Capsaicina-PVA-Quitano para su potencial uso en fungicidas orgánicos", de conformidad con el Art. 114 del CÓDIGO ORGÁNICO DE LA ECONOMÍA SOCIAL DE LOS CONOCIMIENTOS, CREATIVIDAD E INNOVACIÓN reconozco a favor de la Universidad de Cuenca una licenciatura gratuita, intransferible y no exclusiva para el uso no comercial de la obra, con fines estrictamente académicos.

Asimismo, autorizo a la Universidad de Cuenca para que realice la publicación de este trabajo de titulación en el repositorio institucional, de conformidad a lo dispuesto en el Art. 144 de la Ley Orgánica de la Educación Superior.

Cuenca, 18 de diciembre de 2019.



Segarra Urgiléz Andrea Estefanía
C.I. 0105971204

¹ Saca Zúñiga Juan Carlos

² Segarra Urgiléz Andrea Estefanía

Cláusula de Propiedad Intelectual

Saca Zúñiga Juan Carlos autor del trabajo de titulación "Síntesis solvotermal de nanopartículas de Zn, Fe y Ag encapsulados en matriz de Capsaicina-PVA-Quitano para su potencial uso en fungicidas orgánicos", certifico que todas las ideas, opiniones y contenidos expuestos en la presente investigación son de exclusiva responsabilidad de los autores.

Cuenca, 18 de diciembre de 2019.

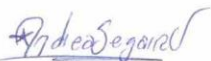


Saca Zúñiga Juan Carlos
C.I. 0104228507

Cláusula de Propiedad Intelectual

Saca Zúñiga Juan Carlos y Segarra Urgiléz Andrea Estefanía, autores del trabajo de titulación "Síntesis solvotermal de nanopartículas de Zn, Fe y Ag encapsulados en matriz de Capsaicina-PVA-Quitano para su potencial uso en fungicidas orgánicos", certificamos que todas las ideas, opiniones y contenidos expuestos en la presente investigación son de exclusiva responsabilidad de los autores.

Cuenca, 18 de diciembre de 2019.



Segarra Urgiléz Andrea Estefanía
C.I. 0105971204



DEDICATORIA

Esta tesis la dedico con todo mi amor y afecto a mi papá Galo Mesías porque a lo largo de mi vida se ha esforzado a diario para darme todos los recursos para que consiga una carrera para mi futuro.

A mi mamá María Leonor por creer en mi capacidad y brindarme su apoyo día a día para que continúe siempre hacia adelante cumpliendo mis metas.

Gracias a ambos

Juan Carlos

Dedico el presente trabajo de titulación a mis abuelitos: Rosa y Carlos, porque han estado conmigo siempre impulsándome a seguir adelante y no rendirme, los amo con toda mi vida y les debo todo lo que soy y todo lo que he logrado.

A mis padres Aida y Francisco, pese a la distancia, los sentí siempre cerca de mi apoyándome y alentándome en cada paso que daba, los amo mucho.

A mis hermanos, Erika, Francis y Chris, siempre fueron mi fuerza e inspiración.

A Daniel, mi compañero y amigo, gracias por tu amor y apoyo incondicional.

Andrea

¹ Saca Zúñiga Juan Carlos

² Segarra Urgiléz Andrea Estefanía



AGRADECIMIENTOS

Agradecemos al Dr. Christian Cruzat por su apoyo, paciencia y confianza brindada al habernos permitido contribuir con un granito de arena al Desarrollo del proyecto de investigación "Fungicidas en base a quitosano/nanopartículas de metales nobles/capsaicina para su utilización en la elaboración de productos orgánicos. Caracterización estructural y evaluación de su acción biocida". Proyecto DIUC_XV_2017_006 de la Universidad de Cuenca-Ecuador. Gracias por sus conocimientos compartidos y todas las enseñanzas brindadas.

A la Dra. Eulalia Vanegas, directora del Centro de Estudios Ambientales CEA por permitirnos desarrollar el presente trabajo de investigación en sus instalaciones y contribuir también a nuestro aprendizaje.

Extendemos además nuestro sincero agradecimiento a la Ing. Dianita Brazales, Ing. Daniel Bermejo, Ing. Pablo Castro y Sandrita Pesántez por habernos extendido su cordial ayuda en el desarrollo del trabajo de titulación y habernos brindado su sincera amistad.

A la Dra. Guillermina Pauta, Andrea Abril y Gabriela Vázquez que nos brindaron apoyo en el laboratorio de Sanitaria de la Facultad de Ingeniería de la Universidad de Cuenca.

Al Dr. Ramon Arrúe y Néstor Novoa de la Facultad de Ciencias Químicas de la Universidad de Concepción, en Concepción-Chile por habernos ayudado con el financiamiento de los procesos de caracterización de nanofibras y nanopartículas.

A la Dra. María Elena Cazar del laboratorio de Análisis Instrumental de la Universidad de Cuenca por habernos ayudado con la caracterización IRTF de nanopartículas y capsaicina y por haber contribuido a nuestra formación profesional.

A nuestros padres, familiares y amigos que con su optimismo nos alentaron a concluir este trabajo de titulación, su apoyo fue primordial para la culminación de este proyecto.

Infinitas gracias a todos.

¹ Saca Zúñiga Juan Carlos

² Segarra Urgiléz Andrea Estefanía

INTRODUCCIÓN

La nanotecnología es la ciencia de la manipulación de materia a nivel molecular o atómico para producir nuevos materiales con propiedades superiores extraordinarias (Mohan Bhagyaraj & Oluwafemi, 2018). Esta ciencia es la aplicación de una amplia gama de campos que incluyen biología, física, química, medicina e ingeniería y ciencia de materiales para adaptar materiales en el rango de 1 a 100 nm y solucionar problemas específicos que mejoren la vida del ser humano y la naturaleza, tal es el caso de la Agricultura (Ghodake et al., 2018).

La agricultura es un conjunto de técnicas y conocimientos mediante los cuales, se cultiva la tierra y se vuelve de ella un recurso productivo (Hayles, Johnson, Worthley, & Losic, 2017). La agricultura es muy importante para la sociedad pues permite al hombre producir alimentos necesarios para su existencia, mediante el uso de múltiples herramientas de manejo para controlar sus sembríos, con el objetivo de optimizar el nivel de producción. Para esto, se requiere del estudio de factores externos que influyen durante la etapa del sembrío y desarrollo de las plantaciones, como el clima y mercado, que son aspectos determinantes por lo imprevisibles que son, además es de vital importancia estar a la vanguardia de las herramientas tecnológicas necesarias para el desarrollo del sector agrícola. (Carpio, 2018).

Para el desarrollo de la agricultura, se requiere la simplificación de la biodiversidad natural, la producción de un ecosistema artificial y la intervención constante del ser humano para evitar el deterioro de las tierras cultivables. En muchos casos, esta intervención consiste en la introducción de productos, tales como fertilizantes, pesticidas, agroquímicos que, además de elevar temporalmente las producciones, dan lugar a numerosos costes ambientales y sociales (Altieri & Nicholls, 2007). Conforme progresa la modernización agrícola, los procesos ecológicos son continuamente ignorados o desestimados, lo que desencadena un sinnúmero de desequilibrios tales como la erosión, salinización, contaminación de aguas y el apareamiento de plagas, siendo este último el problema de más importancia para los agricultores. Las plagas más comunes son: Bacterias, Insectos, Ectoparásitos y Hongos (Konur, 2017).

A lo largo del tiempo, los agricultores han tenido que lidiar con el control de plagas que afectan considerablemente a sus cultivos. Las plagas bacterianas y fúngicas dañan cuantiosamente la producción agrícola, disminuyen la cantidad y la calidad de

¹ Saca Zúñiga Juan Carlos

² Segarra Urgiléz Andrea Estefanía



producto y originan cuantiosas pérdidas monetarias y de tiempo a los productores (Montoya, 2016). La agresividad de las plagas se ve favorecida por el desarrollo de monocultivos (Altieri & Nicholls, 2007). Para mitigar el daño ocasionado por las plagas, varios agricultores han optado por el uso de pesticidas y fungicidas que son aplicados directamente sobre las plantas. Mientras que los fungicidas, que son sustancias tóxicas empleadas para reprimir o eliminar el crecimiento de hongos y mohos perjudiciales para los cultivos (Vargas, Álvarez, Guigón, Cano, & García, 2019), son aplicadas vía tópica por rociado o pulverización sobre las hojas, semillas, raíces o frutos.

Siendo un factor principal la velocidad de liberación y efectividad de los fungicidas, factores dependientes de la forma de aplicación, tipo de cultivo y de elementos ambientales. Aunque este tipo de productos parezca una solución viable y rápida a los problemas de los agricultores, en realidad ha desencadenado numerosos inconvenientes medioambientales y hacia el ser humano (Salgado, 2018). La exposición del ser humano a este tipo de fungicidas lleva consigo riesgos que deben ser tomados en cuenta en su manipulación y empleo, pues muchos de estos agroquímicos tienen efectos adversos que dañan la piel, los pulmones y los ojos. Las personas más afectadas son aquellas que por exposición laboral tienen contacto frecuente con este tipo de productos, ocasionando daños vía respiratoria y dérmica. (Gorla, 2018).

En el marco de la agricultura alternativa se habla de manejo y no de control de plagas. El manejo significa admitir que hay organismos que actúan sobre las plantas de buena manera, polinizándolas, contribuyendo a su desarrollo o simplemente conviviendo armónicamente con ellas, y hay otros, en cambio que afectan negativamente, dañando a las plantas en cualquier etapa de su desarrollo (Carpio, 2018; Konur, 2017).

La agricultura convencional no contempla esta diferencia, razón por la cual se utiliza pesticidas de origen químico que acaba con la diversidad de insectos sin diferenciación de ser benéficos o ser plagas. Por este motivo, la agricultura orgánica responde a la necesidad del control las plagas sin causar daño medioambiental incentivando el uso de biopesticidas y fungicidas orgánicos a base de productos naturales, biodegradables y de baja toxicidad. (Nava, García, Camacho, & Vázquez, 2012)

¹ Saca Zúñiga Juan Carlos

² Segarra Urgiléz Andrea Estefanía



La propuesta de esta investigación se centra en la obtención de nanopartículas triples de Zn-Fe-Ag, como nanofibras encapsuladas en capsaicina dentro de una matriz polimérica de PVA-Quitano, producto que promete, ser utilizado como potencial fungicida agrícola orgánico. Esta investigación abarca tres de los elementos más conocidos y de mejores características fungicidas existentes en nuestro medio:

- Nanotecnología: nanopartículas y nanofibras de metales nobles (Dadi, Rabah, Traore, Mielcarek, & Kanaev, 2019; Malaikozhundan, Vaseeharan, Vijayakumar, & Thangaraj, 2017);
- Extractos de plantas: oleorresinas naturales, aceites esenciales (Moreno-Limón, Salcedo-Martínez, Cárdenas-Ávila, Hernández-Piñero, & Núñez-González, 2012; I. Vargas et al., 2017);
- Biopolímeros: polímeros de bajo impacto ambiental y biodegradables (Kanatt, Rao, Chawla, & Sharma, 2012; Nava-Pérez, García-Gutiérrez, Camacho-Báez, & Vázquez-Montoya, 2012)

¹ Saca Zúñiga Juan Carlos

² Segarra Urgiléz Andrea Estefanía



OBJETIVOS

OBJETIVO GENERAL:

- Sintetizar una mezcla triple de nanopartículas de Zn-Ag-Fe mediante un método solvotermal y capsaicina para su encapsulamiento en nanofibras de matriz polimérica de PVA-Quitano para potenciales aplicaciones antifúngicas.

OBJETIVOS ESPECÍFICOS:

- Obtener el extracto del ají criollo (*Capsicum annum*) para su cuantificación de capsaicina y encapsulamiento en nanofibras de matriz polimérica.
- Sintetizar nanopartículas de Zn-Ag mediante método solvotermal con la incorporación de nanopartículas de Fe.
- Caracterizar las nanopartículas obtenidas mediante técnicas de microscopía electrónica de transmisión (MET).
- Sintetizar nanofibras con nanopartículas de Zn-Ag-Fe y Capsaicina dispersadas en una matriz polimérica de PVA-Quitano mediante electrohilado.
- Caracterizar las nanofibras obtenidas mediante microscopía electrónica de barrido (MEB).
- Evaluar el comportamiento de las fibras durante la liberación de los principios activos mediante ajuste a modelos matemáticos.

¹ Saca Zúñiga Juan Carlos

² Segarra Urgiléz Andrea Estefanía

MARCO TEÓRICO

NANOTECNOLOGÍA

La nanotecnología es un campo de la ciencia que manipula la materia a nivel atómico y molecular (Mohan Bhagyaraj & Oluwafemi, 2018), que incluye la síntesis y el desarrollo de varios nanomateriales (Elgorban et al., 2016).

El término nanotecnología por primera vez fue utilizado en 1974 por el investigador japonés Taniguchi, esto relacionado con la síntesis y aplicación de partículas con tamaños comprendidos entre 1-100 nm ($1 \text{ nm} = 1 \cdot 10^{-9} \text{ m}$). Las nanopartículas son de gran interés científico ya que cierran la brecha entre los materiales macroscópicos interpretados fisicoquímicamente por la mecánica clásica, y las estructuras atómicas o moleculares gobernadas por la mecánica cuántica. (Khodashenas & Ghorbani, 2015). Cuando un material tiene tamaño nanométrico, éste actúa diferente que su igual macrométrico, debido a que las nanopartículas tienen mayor relación superficie-volumen, lo cual incrementa su capacidad física y su actividad bioquímica (Hayles et al., 2017; Khan & Rizvi, 2014).

En los últimos años, la aplicación de nanopartículas es muy común, debido a sus incomparables características fisicoquímicas, biológicas, ópticas que tienen diversas aplicaciones tales como: los procesos catalíticos, la tecnología de sensores, las aplicaciones biológicas como antimicrobianos y antifúngicos, por nombrar algunas (Elgorban et al., 2016; Jampílek & Kráľová, 2017).

SÍNTESIS DE NANOPARTÍCULAS

Se han explorado muchas tecnologías para fabricar nanoestructuras y nanomateriales, generalmente con diferente enfoque, ya sea ambientales, económicos, facilidad de fabricación (a través de una ruta verde), biocompatibilidad, entre otros (Joshi, 2018). Para la síntesis de nanopartículas (Nps) están bien establecidas dos estrategias:

Top-Down (de arriba hacia abajo)

Método que involucra la disminución del tamaño de partículas partiendo de un bulk (masa) de tamaños micro y macrométricos reduciendo el tamaño hasta llegar al rango nanométrico, es decir, las partículas más grandes se fraccionan en partículas más pequeñas (Mohan Bhagyaraj & Oluwafemi, 2018). Dentro de esta técnica se puede mencionar métodos como: molienda de alta energía, deposición en fase vapor, *sputtering*, entre otros. Estos métodos, excepto la molienda, requieren instrumentación compleja, lo que incrementa los costos de producción (Vanegas et al., 2014).

¹ Saca Zúñiga Juan Carlos

² Segarra Urgiléz Andrea Estefanía



Bottom-up (de abajo hacia arriba)

Estrategia de síntesis en la que, átomos o moléculas se ensamblan hasta lograr estructuras moleculares en el tamaño nanométrico, preparadas en un medio líquido a condiciones supercríticas (Rane, Kanny, Abitha, & Thomas, 2018).

Esta es la estrategia más popular y usada para la preparación de Nps la cual involucra una síntesis química (precipitación química, síntesis solvotermal, síntesis hidrottermal, método coloidal, sol-gel, etc.) y biológica (uso de microorganismos) (Vanegas et al., 2014).

Método Solvotermal

El método solvotermal es una síntesis versátil suscitada en un solo recipiente basada en un mecanismo general de transferencia y separación de fase que se produce en la interfaz de un solvente líquido, la solución y las fases sólidas (Nawaz et al., 2019).

El método solvotermal e hidrottermal, tienen los mismos principios, la única diferencia que existe es que los precursores que no se solubilizan en fase acuosa requieren el empleo de otro solvente más adecuado. Esta técnica consiste básicamente en una reacción química dada dentro de un reactor sellado que emplea altas presiones y temperaturas que permiten el acoplamiento de los iones metálicos en tamaños nanométricos (Šarić, Despotović, & Štefanić, 2019).

El crecimiento y el autoensamblaje de los nanomateriales se produce en el medio de reacción, por lo que, las propiedades fundamentales del medio están influenciadas por las condiciones de reacción tales como solvente, surfactante y precursores. En investigaciones recientes, se ha demostrado que el tiempo de reacción influye más en la morfología de las nanopartículas que incluso la concentración de los precursores (Ashik et al., 2018).

Un compuesto que se utiliza generalmente en este tipo de síntesis es la polivinilpirrolidona (PVP), esto debido a su acción dual en la síntesis, ya que actúa como estabilizador (evita aglomeraciones e incremento de tamaño de partículas) y como reductor del metal (coadyuva a la disminución del tamaño de partícula) (Muñoz, Sierra, Flores, Milošević, & Rabanal, 2017).

La cristalización directa de los nanomateriales en la solución permite el control adecuado de la velocidad y la uniformidad de la nucleación, el crecimiento y el envejecimiento del material mediante la regulación de varios parámetros experimentales, como el pH, la temperatura, la presión, el tiempo, el medio de reacción y la concentración. Por lo tanto, el tamaño, la morfología, la estructura y las propiedades de los materiales están bien controlados en este proceso (Zare et al., 2018).

¹ Saca Zúñiga Juan Carlos

² Segarra Urgiléz Andrea Estefanía

Reactor Solvotérmico

El reactor solvotermal (Ilustración 1) conocido también como autoclave está compuesto de la siguiente manera.

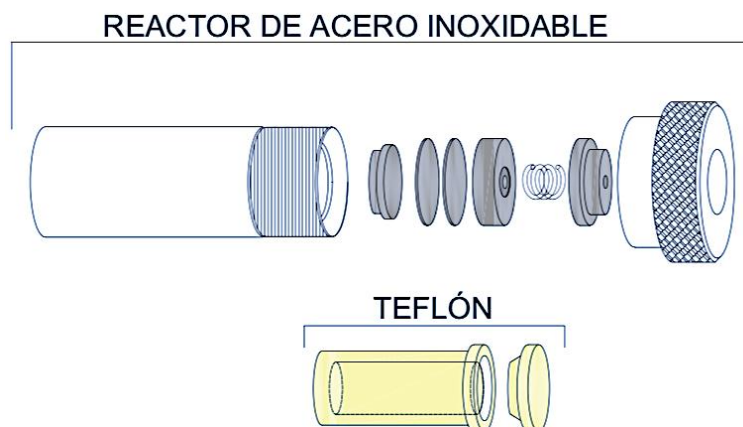


Ilustración 1. Reactor Solvotermal

- Cuerpo y tapa del reactor: elaborado generalmente de acero inoxidable para proteger de la corrosión externa provocada por el calor y el aire.
- Revestimiento interno inerte: generalmente de teflón que evita la corrosión del reactor causado por reactivos químicos.

Parámetros de control

Esta técnica ha sido ampliamente empleada en síntesis de partículas de metales nobles o sus combinaciones como nanocubos de plata, nanopartículas *Core-Shell* Mn-Zn, Zn-Ag debido a la facilidad de control del proceso y a su efectivo acoplamiento entre especies (Nawaz et al., 2019). La combinación de metales ha permitido mejorar las características de las nanopartículas, sin embargo, el control de los parámetros de reacción es indispensable para lograr el máximo de sus propiedades. Los parámetros más relevantes son:

- Naturaleza del precursor: Existen varios estudios sobre la diferencia morfológica de las nanopartículas obtenidas según el precursor empleado, por ejemplo, nitrato de zinc y acetato de zinc destacan entre todos los precursores de Nps-Zn debido a su mayor solubilidad en solventes orgánicos, además de las estructuras hexagonales que obtiene el producto (Liu, Fan, Liu, Huang, & Li, 2018). En caso de la Plata, el precursor por excelencia es también el nitrato de plata.
- Solvente: El solvente tiene un rol muy importante en la reacción química, debido a que es el medio de reacción en donde se suscitará la nucleación y crecimiento de los cristales nanoparticulados (Rane et al., 2018). Por ejemplo, Muñoz y

¹ Saca Zúñiga Juan Carlos

² Segarra Urgiléz Andrea Estefanía

colaboradores informaron que para la síntesis de estructuras heteromórficas Zn-Ag utilizaron etanol absoluto como solvente, debido a la facilidad de disolver sales nitradas de Zn y Ag, afectando positivamente a la morfología de la estructura binaria (Muñoz et al., 2017). Otro ejemplo son los que entregan los experimentos de Ashik y colaboradores los que mostraron Nps-ZnO con forma de coliflor, cónica hexagonal truncada, tubular, con forma de varilla, como reloj de arena, nanotubos y formas esféricas se produjeron cuando se utilizaron Tetrahidrofurano, decano, agua, tolueno, etanol y acetona como solventes respectivamente (Nawaz et al., 2019).

- Viscosidad: Generalmente la viscosidad de los solventes disminuye a medida que aumenta la temperatura, lo que mejora la movilidad de las especies precursoras en comparación con la presión y temperatura ambiente (Ewaldz, Patel, Banerjee, & Brettmann, 2018)
- Temperatura, presión y tiempo de reacción: La presión y temperatura son indispensables para lograr la reacción química, estos parámetros dependen además de la naturaleza y volatilidad del solvente, por ejemplo, a mayor presión de vapor se ha observado nanopartículas aglomeradas mientras que, solventes con bajas presiones de vapor presentan formas definidas y cristalinas. Además, han demostrado que el tiempo de reacción influye más que la concentración del precursor en la morfología de las nanopartículas. Así, tiempos prolongados incrementan el tamaño de las nanopartículas, mientras que tiempos muy bajos no permiten una adecuada nucleación (Nawaz et al., 2019). El control adecuado de los tres parámetros brinda uniformidad de la nucleación y crecimiento (Ashik et al., 2018).

Coprecipitación química

Es un mecanismo de síntesis en el que, sales precursoras son adicionadas en un medio precipitante y a medida que avanza la reacción, el medio líquido se vuelve sobresaturado con unidades atómicas y moleculares. (Mazrouaa, Mohamed, & Fekry, 2019) Estas unidades involucran la formación de especies insolubles formadas en condiciones básicas y de alta sobresaturación (Rane et al., 2018). La síntesis consiste en reducir una mezcla de iones metálicos usando una solución básica mediante la ocurrencia simultánea de los siguientes procesos (Nawaz et al., 2019):

- Fase principal: la nucleación es la fase principal de la formación de partículas pequeñas. En la nucleación los monómeros forman núcleos sobre los cuales empieza el acoplamiento de los átomos y moléculas, en este momento las partículas muestran alta energía superficial y presentan mayor inestabilidad (Ashik

¹ Saca Zúñiga Juan Carlos

² Segarra Urgiléz Andrea Estefanía

et al., 2018). Este es el paso clave debido a que da paso a la formación de una gran cantidad de partículas micro y nanométricas (Cruzat Contreras, Peña, Meléndrez, Díaz-Visurraga, & Cárdenas, 2011).

- Fase secundaria: los procesos secundarios involucran el crecimiento, la maduración y agregación de Ostwald. Esto afecta drásticamente el tamaño, la morfología y las propiedades de los productos. Las condiciones de sobresaturación son necesarias para inducir la precipitación de las nanopartículas (Rane et al., 2018):

Esta técnica es adecuada para la obtención de nanopartículas de Fe^{2+} y Fe^{3+} debido a su facilidad de precipitación y además que permite mantener sus propiedades magnéticas intactas (Meng, Zhang, Zhao, Qiu, & Yang, 2013).

La coprecipitación es un método que tiene como ventajas: alto rendimiento, reproducibilidad, bajos costos, y la simple y rápida obtención de nanopartículas, sin embargo, las propiedades de las nanopartículas dependen de sobremanera, de los parámetros de reacción como temperatura, pH, fuerza iónica (Ghandoor, Zidan, Khalil, & Ismail, 2012).

La única desventaja que presenta es la presencia de impurezas en la fase de solución debido a la simplicidad del método (Ashik et al., 2018).

NANOPARTÍCULAS METÁLICAS

Entre las diferentes nanoestructuras, las nanopartículas metálicas son las más prometedoras y esto se debe a sus propiedades antibacterianas (Khodashenas & Ghorbani, 2015). Estudios han mostrado que las nanopartículas que mejores actividades antifúngicas y fungistáticas han manifestado son:

- Nanopartículas de Cobre (Dadi et al., 2019)
- Nanopartículas de Plata (Elgorban et al., 2016)
- Nanopartículas de Zinc (Dorneanu et al., 2019)
- Nanopartículas de Hierro (Xiang, Zhang, Chi, Cai, & Wu, 2017)
- Combinación de metales como: Zn-Ag (Muñoz et al., 2017) ; Zn-Fe (Saleh & Djaja, 2014).

Los estudios han demostrado que las increíbles propiedades de las nanopartículas están fuertemente influenciadas por las condiciones experimentales, medios circundantes, la cinética de interacción de los iones metálicos con agentes reductores y los procesos de adsorción del agente estabilizador con nanopartículas metálicas. Por lo tanto, la síntesis controlada de nanocristales es un desafío clave para alcanzar sus características mejor aplicadas (Khodashenas & Ghorbani, 2015).

¹ Saca Zúñiga Juan Carlos

² Segarra Urgiléz Andrea Estefanía



Nanopartículas de Zinc

El óxido de zinc es un material semiconductor básico muy importante debido a su gran espacio de banda (3,37 eV a temperatura ambiente), bajo costo y comportamiento respetuoso con el medio ambiente. Ha sido ampliamente utilizado en la cosmetología junto al dióxido de titanio en protectores solares y maquillajes (Ahmed et al., 2018). Como Nps, sus propiedades fotocatalíticas se incrementan y adquiere nuevas propiedades fungistáticas, entre otras. Debido a sus maravillosas propiedades, se usa ampliamente en muchas aplicaciones avanzadas, como sensores de gas, películas conductoras transparentes, transductores piezoeléctricos, células solares sensibilizadas por colorante, detectores de luz UV, catalizadores y materiales antimicrobianos (Malaikozhundan et al., 2017). Su par electrónico disponible es muy inestable debido a que se recombina rápidamente e incrementa su tamaño de partícula, por lo que, actualmente se utiliza óxido de zinc combinado con otros metales que impiden su recombinación (Muñoz et al., 2017).

Existen varios métodos de síntesis de nanopartículas de zinc, sin embargo, la ruta solvothermal es la más adecuada debido a que permite la síntesis dual de Nps Zn-Ag, esta combinación es muy efectiva debido a que, además de aumentar la conductividad, incrementa su actividad microbiana (Ashik et al., 2018).

Nanopartículas de Plata

En los últimos años, las nanopartículas de plata han atraído mucha atención debido a su buena conductividad, estabilidad química y sus aplicaciones en diversas industrias, incluidas las ciencias médicas (para tratar el virus del VIH), la industria de los alimentos (como agentes antibacterianos en el envasado de alimentos) y también sus cualidades eléctricas y ópticas únicas (Amruthraj, Preetam Raj, & Lebel, 2015).

Las nanopartículas de plata (Nps-Ag) se utilizan ampliamente para varios fines de desinfección y eliminación de microorganismos patógenos, especialmente inmersas en fibras poliméricas derivadas de electrohilado debido a su excepcional capacidad para matar una amplia gama de microorganismos patógenos, pueden ser usados en diversos campos tales como tratamiento de agua, medicina e incluso agricultura (Elgorban et al., 2016; Rodríguez, Morales, & Grande, 2019).

El estudio del mecanismo de la actividad antibacteriana de las nanopartículas de plata demostró que esta propiedad está relacionada con los cambios morfológicos y estructurales en la célula bacteriana (Sikder, Lead, Chandler, & Baalousha, 2018).

Debido a sus excelentes propiedades antifúngicas, el uso de Ag- Nps se ha generalizado a medida que el progreso científico hace que su producción sea más

¹ Saca Zúñiga Juan Carlos

² Segarra Urgiléz Andrea Estefanía

rentable, específicamente en el manejo de enfermedades de las plantas. La forma influye también en las propiedades antifúngicas de las Nps de plata. En estudios anteriores, se ha demostrado que la velocidad de reacción en las nanopartículas cúbicas es 14 veces más que las Nps triangulares, y 4 veces más alta que las nanopartículas semiesféricas (Elgorban et al., 2016).

Para lograr la forma adecuada de las nanopartículas de plata, es importante precisar que, el mejor precursor para la síntesis es el nitrato de plata, debido a su solubilidad en solventes polares, lo que permite obtener plata iónica (Ag^+) que, en presencia de PVP que actúa como agente de recubrimiento (indispensable para controlar la forma de las nanopartículas), permite la reducción de la plata a escalas nanométricas; para que esto suceda, la relación molar Ag^+/PVP debe estar entre 1,5 y 3 (Khodashenas & Ghorbani, 2015).

Nanopartículas de Hierro

En los últimos años, materiales orgánicos como inorgánicos han sido ampliamente estudiados en función de sus propiedades magnéticas, el hierro, por su parte es uno de los materiales que mayor poder magnético exhibe, razón por la cual ha sido extensamente estudiado a lo largo del tiempo (Nawaz et al., 2019). Para aplicaciones *in vivo*, las propiedades de los materiales, como la susceptibilidad magnética, la biocompatibilidad, el tamaño, la forma, la química de la superficie y la disponibilidad son extremadamente importantes, es aquí donde las nanopartículas toman gran importancia (Xiang et al., 2017).

Las nanopartículas, al ser de tamaños muy pequeños exhiben y mejoran una cualidad magnética que permite su uso especializado (Mazrouaa et al., 2019). Las partículas magnéticas a escala nano y micro constituyen una poderosa herramienta para procesos de separación, catálisis y en muchos otros sistemas empleados en química, bioquímica, biología y medicina especialmente en diagnóstico y tratamiento de enfermedades (Vanegas et al., 2014).

Mediante experimentación, ha sido expuesto que, tiene propiedades bactericidas debido a su magnetismo, por lo que, puede ser usado en mallas para filtración de agua y eliminar microorganismos presentes en ella (Xiang et al., 2017). La coprecipitación es una forma muy fácil y conveniente de sintetizar nanopartículas de óxido de hierro a partir de soluciones acuosas de sal de Fe^{2+} y Fe^{3+} con excelentes propiedades magnéticas aplicables en cualquier rama de la industria (Nawaz et al., 2019).

Se ha demostrado que, la adición de hierro a estructuras de zinc mejora las cualidades bactericidas de este último, además el hierro exhibe propiedades

¹ Saca Zúñiga Juan Carlos

² Segarra Urgiléz Andrea Estefanía

superparamagnéticas, por lo que, está siendo ampliamente estudiado en conjunto (Alvear et al., 2017). Reportes como el de Karunakaran y colega muestran que mediante síntesis solvothermal se ha logrado obtener estructuras heteromórficas Zn-Fe adecuadas con propiedades fotocatalíticas y superparamagnéticas letales para bacterias y hongos (Karunakaran & Vinayagamoorthy, 2017).

NANOCOMPUESTOS: FIBRAS ELECTROHILADAS

Las fibras poliméricas derivadas del electrohilado y técnicas relacionadas se han explotado recientemente para obtener nuevos materiales con aplicaciones potenciales en medicina, energía y medio ambientales. Las características más atractivas de estos materiales son las relacionadas con la morfología, como el diámetro de la fibra en el régimen sub-micrométrico, alta porosidad con huecos interconectados, gran relación de área de superficie a volumen, facilidad de adición de ingredientes activos y la flexibilidad de las nanofibras, etc. (Asmatulu & Khan, 2019; Haider, Haider, & Kang, 2018)

En este contexto, investigadores y científicos han estado estudiando las principales aplicaciones de las nanofibras y se han aplicado en campos como la ingeniería de tejidos, como andamios y/o vendajes para heridas, la industria alimentaria como biofilms protectores y las aplicaciones agrícolas como fertilizantes y pesticidas orgánicos (Ahmed et al., 2018).

Las nanoestructuras poliméricas pueden tener la adición de nanopartículas, feromonas, biocidas, principios activos de plantas, entre otros; que proporcionan a la fibra una mayor resistencia mecánica, térmica, química y actividad antibacteriana mejorada (Haider et al., 2018). La adición de estos elementos se ajusta según la necesidad.

Las nanofibras electrohiladas pueden señalarse en cualquier dirección con una distancia extendida para cubrir una mayor área de superficie y por lo tanto mayor flexibilidad para la liberación de los principios activos, lo que sugiere una ventaja sobre otras técnicas de hilado. (Asmatulu & Khan, 2019).

Electrohilado

El electrohilado (conocido también como *electrospinning*) es un proceso de producción de fibras a micro y nanoescala orgánicas e inorgánicas para diversas aplicaciones industriales. (Asmatulu & Khan, 2019).

¹ Saca Zúñiga Juan Carlos

² Segarra Urgiléz Andrea Estefanía

Esta técnica ha acumulado un interés significativo debido a su capacidad para fabricar nanoestructuras con propiedades únicas tales como un área de superficie alta y porosidad inter/intra fibrosa (Haider et al., 2018).

El electrohilado consiste esencialmente en hacer una solución de un polímero (a menudo con un componente funcional) en un disolvente volátil, la cual se bombea a través de la aguja formando una gota en la punta. Paralelamente, una corriente de alto voltaje pasa por la aguja y estira la gota. Esto se debe a que las fuerzas electrostáticas de la gota compiten con la tensión superficial, lo que lleva a la formación del conocido “Cono de Taylor” (Ewaldz et al., 2018). Cuando las fuerzas electrostáticas superan la tensión superficial, un chorro se extiende desde el cono de Taylor, con el fluido moviéndose en el campo eléctrico hacia la placa conectada a tierra. El chorro disminuye de grosor y se da una rápida evaporación del disolvente a medida que viaja a la placa puesta a tierra, lo que da como resultado fibras sólidas de nano a microescala basadas en polímeros unidimensionales (Yu, Li, Zhang, & Williams, 2017). En la Ilustración 2 se observa el proceso esquematizado de electrohilado.

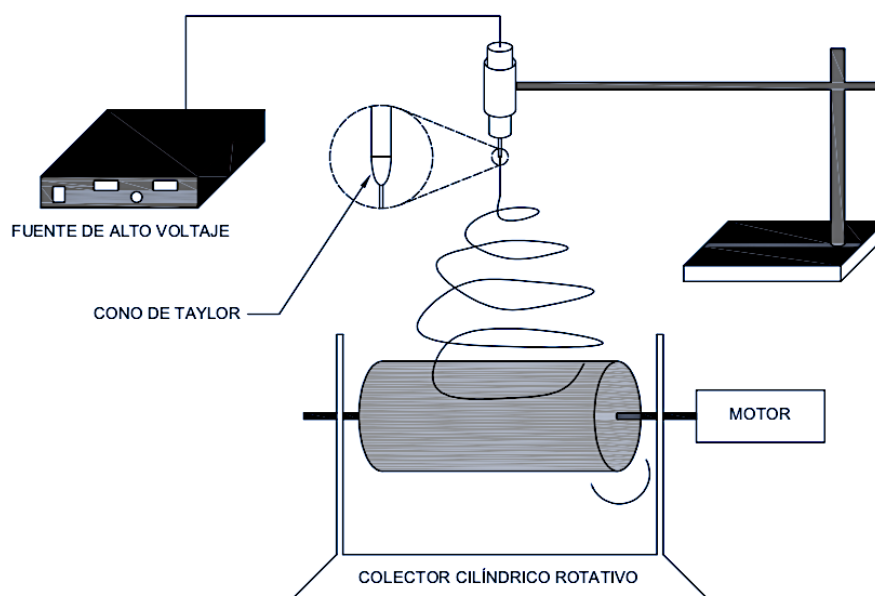


Ilustración 2. Proceso de electrohilado

Las soluciones se preparan generalmente utilizando polímeros apropiados tales como poliacrilonitrilo (PAN), Difloruro de polivinilideno (PVDF), Carboximetil celulosa (CMC), PVP, PVA, Quitosano, por nombrar algunos (Ahmed et al., 2018).

La síntesis de nanofibras a través de electrohilado se ve afectada por muchos parámetros operativos que intervienen en la fabricación y aplicación de nanofibras en ingeniería de tejidos, administración de fármacos, vendajes para heridas, estudio antibacteriano, filtración, desalinización, fabricación de ropa protectora y biosensores.

¹ Saca Zúñiga Juan Carlos

² Segarra Urgiléz Andrea Estefanía



la configuración básica de electrohilado consta principalmente de cuatro partes principales: una jeringa que contiene una solución de polímero, una aguja metálica, una fuente de alimentación de voltaje y un colector metálico (Ghafari, Feng, Liu, Ferguson, & Lu, 2017).

Parámetros que influyen en el electrohilado

Hay varios factores que afectan el proceso de electrohilado, más específicamente a la calidad de las fibras y su homogeneidad (Ewaldz et al., 2018).

Estos factores pueden ser: propios de la técnica de electrohilado, relacionados con la naturaleza de la solución y factores ambientales. La influencia de tales factores, afecta directamente la generación de fibras electrohiladas suaves, sin perlas y de buena calidad, por lo tanto es esencial comprender a fondo los efectos de todos estos parámetros rectores (Haider et al., 2018).

Las nanoestructuras pueden presentarse en diferentes formas, como nanotubos huecos, nanocilindros, nanoesferas e incluso nanomallas de fibras entrecruzadas; de los parámetros de experimentación depende la forma y homogeneidad del producto (Pillay et al., 2013).

Parámetros influyentes en la técnica de electrohilado

- **Tensión:** Un flujo de voltaje se dirige desde la alimentación hasta la aguja de inyección, en la cual se forma una gota de solución que rápidamente se deforma en un cono debido a la tensión eléctrica. Entre la punta de la aguja y el cilindro colector se forma un arco eléctrico que permite el hilado de la solución polimérica, es aquí en donde radica la importancia de un adecuado flujo de voltaje crítico para el electrohilado. (Rodríguez et al., 2019). Un voltaje por debajo del crítico no es capaz de formar el arco eléctrico entre la aguja y el colector, es decir, no se produce el electrohilado. Caso contrario, un voltaje mayor al voltaje crítico, impide la formación de cono o su formación es entrecortada y débil, debido a que el arco eléctrico intenso extingue el cono de Taylor (Alharbi et al., 2018). El valor de voltaje crítico varía de un polímero a otro, pero generalmente radica entre 10 kV a 30 kV. Si el voltaje no está optimizado, generará que se formen esferas o se aumente el diámetro de las nanofibras e incluso que lleguen a deformarse (Ahmed et al., 2018).
- **Caudal:** La velocidad del flujo influye directamente en la forma de las fibras debido a que la solución necesita un flujo crítico para evaporar el solvente

¹ Saca Zúñiga Juan Carlos

² Segarra Urgiléz Andrea Estefanía

adecuadamente desde que se genera en la punta de la aguja hasta el colector, así como para mantener su uniformidad, varía generalmente entre (0,1-6,0 ml/h) (Pillay et al., 2013; Rodríguez et al., 2019). Este parámetro está relacionado directamente con la densidad y la viscosidad de la mezcla. Un flujo por encima del valor crítico aumenta el tamaño de los poros, el diámetro de la fibra y aumenta la generación de perlas debido al secado incompleto del chorro (Alharbi et al., 2018). Un flujo por debajo del caudal crítico no permite electrohilado continuo debido a la formación entrecortada del cono de Taylor, lo que origina un amplio rango de diámetros de fibras. Las nanofibras electrohiladas uniformes sin aglomeraciones podrían prepararse a través de un caudal crítico para una solución polimérica, aunque generalmente se prefiere caudales mínimos para no afectar su morfología (Haider et al., 2018).

- Efecto de la distancia de la aguja al colector y diámetro de la aguja. La morfología de las nanofibras podría verse afectada fácilmente por la distancia, ya que depende del tiempo de deposición, la velocidad de evaporación y el intervalo de batido o inestabilidad, por lo que se debe manejar la distancia crítica para cada proceso y polímero. Se ha demostrado en estudios anteriores que nanofibras defectuosas y de gran diámetro se forman cuando esta distancia se mantiene pequeña, mientras que el diámetro de la nanofibra disminuye a medida que la distancia aumenta (Asmatulu & Khan, 2019). La distancia varía según el polímero y el solvente empleado, sin embargo, se recomienda mantenerse en un rango entre: 50 - 300 mm de distancia punta de aguja-recolector (Pillay et al., 2013).

Parámetros relacionados con la naturaleza de la solución

- Efecto de la concentración del polímero y la viscosidad de la solución. El electrohilado se basa en el fenómeno del estiramiento uniaxial de un chorro eléctricamente cargado. El estiramiento del chorro cargado se ve afectado significativamente al cambiar la concentración de la solución polimérica y además, se ve afectado directamente su viscosidad (mayor concentración, mayor viscosidad), la viscosidad adecuada para un proceso de electrohilado se halla en los rangos 800-4000 cP (Bose & Sanyal, 2018). Cuando la concentración de la solución polimérica es baja, el campo eléctrico aplicado y la tensión superficial hacen que las cadenas de polímero enredadas se rompan en fragmentos antes de llegar al colector. A mayor viscosidad mayor uniformidad de fibras. Sin embargo, una elevada viscosidad dificulta el flujo de

¹ Saca Zúñiga Juan Carlos

² Segarra Urgiléz Andrea Estefanía

la solución a través de la punta de la aguja (la solución de polímero se seca en la punta de la aguja metálica y la bloquea), que en última instancia da como resultado nanofibras defectuosas o con cuentas (Pillay et al., 2013). Se puede concluir que además de los parámetros de electrohilado, la determinación del valor crítico de la concentración/viscosidad también es esencial para obtener nanofibras sin perlas (Haider et al., 2018).

- Efecto de la conductividad de la solución. La conductividad eléctrica es la capacidad de la solución de permitir la transferencia de carga dentro del líquido, a su vez, esta propiedad se rige por la naturaleza del solvente y del soluto. Una solución con una conductividad baja, la superficie de la gota no tendrá carga para formar un cono de Taylor, por lo que no tendrá lugar el electrohilado (Rodríguez et al., 2019). Aumentar la conductividad de la solución a un valor crítico aumenta la superficie de la gota, mejora la formación del cono de Taylor lo que ocasiona una disminución del diámetro de la fibra. La conductividad de la solución puede ser modificada empleando Cloruro de Sodio (NaCl) o Fosfato de monopotasio (KH_2PO_4) siendo el primero más adecuado en función de calidad de fibras. El proceso de electrohilado depende de la fuerza de Coulomb entre las cargas en la superficie del fluido y la fuerza debida al campo eléctrico externo (Haider et al., 2018).
- Influencia del solvente. La selección del solvente es crítico para que una solución polimérica se hile y se forme nanofibras. Se deben tener en cuenta dos cosas antes de seleccionar el solvente. Primero, los disolventes preferidos deben solubilizar fácilmente a los polímeros, y segundo, el solvente debe tener un punto de ebullición moderado, ya que este último tiene relación con la volatilidad de un compuesto. Se prefieren éstos debido a que fomentan la fácil evaporación del solvente y la solidificación de las fibras durante su vuelo desde la punta de la aguja hasta el colector (Itoh, Li, Chan, & Kotaki, 2016). Un solvente volátil permite que las fibras tengan menor densidad de poros debido a su evaporación rápida y uniforme; sin embargo, los disolventes altamente volátiles se evitan principalmente porque sus altas tasas de evaporación causan el secado del chorro, el cual bloquea la punta de la aguja y dificulta el proceso de electrohilado. Entre los más utilizados para el proceso de electrohilado son: Diclorometano (DCM), Dimetilformamida (DMF), Etanol (EtOH), Ácido Acético (AcH), Acetona e Incluso Agua (Asmatulu & Khan, 2019).

¹ Saca Zúñiga Juan Carlos

² Segarra Urgiléz Andrea Estefanía

Efecto de los factores ambientales

- Efecto de la humedad y temperatura. Factores ambientales como la humedad relativa y la temperatura también afectan el diámetro y la morfología de las nanofibras. La humedad causa cambios en el diámetro de las nanofibras al controlar el proceso de solidificación del chorro cargado, sin embargo, esto depende del polímero utilizado (Alharbi et al., 2018). Este fenómeno tiene vinculación con la naturaleza química del polímero. En algunos experimentos dados se observó que el diámetro de las nanofibras disminuyó considerablemente con el aumento de la humedad relativa, caso contrario, se observa cuando la humedad relativa disminuye el diámetro de la fibra tiende a aumentar. (Haider et al., 2018).

EXTRACTOS NATURALES

Las plantas, han tenido desde siempre un rol importante en el desarrollo de la humanidad tanto en el área alimenticia como en el área terapéutica y agrícola. Desde este último punto, se han utilizado plantas como fuentes bioactivas ya sea en polvos, planta completa, extractos o cenizas que ayuden a proteger a los cultivos de las plagas. (González, Moreno, Salcedo, & Pérez, 2015)

Como alternativa potencial y de alta aceptación para su utilización en la agricultura, se ha optado por la investigación de extractos naturales derivados de plantas, en las cuales se ha demostrado que se mejoran las actividades antifúngicas y, además, la reducción de la toxicidad. (I. Vargas et al., 2017)

Estos productos vegetales son muy eficaces, menos costosos, biodegradables y más seguros que sus equivalentes sintéticos. La acción biocida en las plantas está dada por su composición en los que se incluyen compuestos de interés tales como: terpenos, fenoles, alcaloides, glucósidos cianogénicos, compuestos azufrados, flavonoides. (Nava et al., 2012).

Capsaicina

El género *Capsicum* consta, hasta la fecha, de 31 especies, cinco de las cuales se utilizan como vegetales y especies frescas y están extendidas en América Latina y en gran parte del Ecuador. Sus características particulares de sabor picante, aroma y sabor hicieron de este producto un ingrediente importante en las dietas diarias de millones de personas. Las especies más importantes son:

¹ Saca Zúñiga Juan Carlos

² Segarra Urgiléz Andrea Estefanía

- *Capsicum frutescens*: pimientos rojos pequeños de colores anaranjados y rojos, piel lisa y tamaño corto. Nivel de picor: Media-Baja.
- *Capsicum baccatum*: ajíes con cuerpo alargado, piel lisa y brillante, conocido como ají cristal. Nivel de picor: Media-Baja.
- *Capsicum chinense*: ajíes pequeños y delgados, presentan semillas en bulbo, conocido como ají habanero. Nivel de picor: Alto.
- *Capsicum pubescens*: ajíes pequeños achatados, color rojo brillante, presentan semillas en bulbo, conocido como ají rocoto. Nivel de picor: Alto.
- *Capsicum annuum*: frutos rojos alargados, presentan semillas inmersas en la placenta pegada a las paredes internas del fruto. Nivel de picor: Media-Alta. Esta especie es la más extendida dentro del Ecuador, según la región toma diferentes nombres por lo que comúnmente se le conoce como ají criollo. (Melgar-Lalanne, Hernández-Álvarez, Jiménez-Fernández, & Azuara, 2017):

La capsaicina (8-metil-N-vanillil-6-nonenamida) es un compuesto orgánico con un grupo de alcaloides, con la fórmula química: $C_{18}H_{27}NO_3$, y una masa molecular de 305.41 g/mol. Los capsaicinoides más importantes del grupo son: capsaicina, hidrocapsaicina y dehidrocapsaicina. Es mayoritaria su presencia en frutas de diversas variantes de pimiento (género *Capsicum*), y el propio compuesto es responsable del sabor picante o pungente de esta planta (Adaszek et al., 2019).

La Ilustración 3 y 4 muestran la estructura química de capsaicina y dehidrocapsaicina (capsaicinoide más importante).

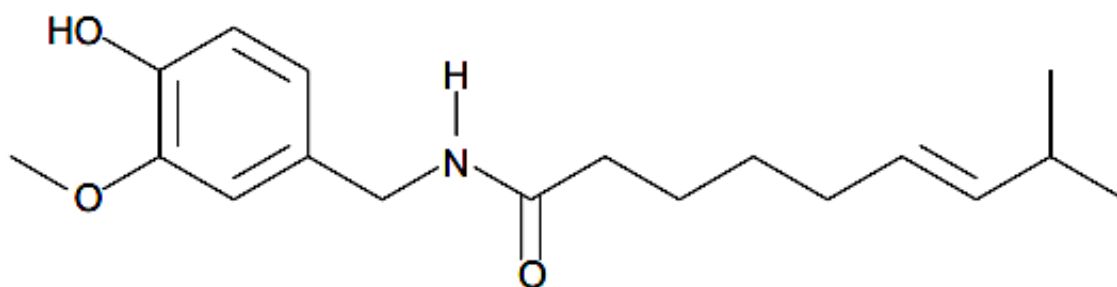


Ilustración 3. Estructura química de la capsaicina

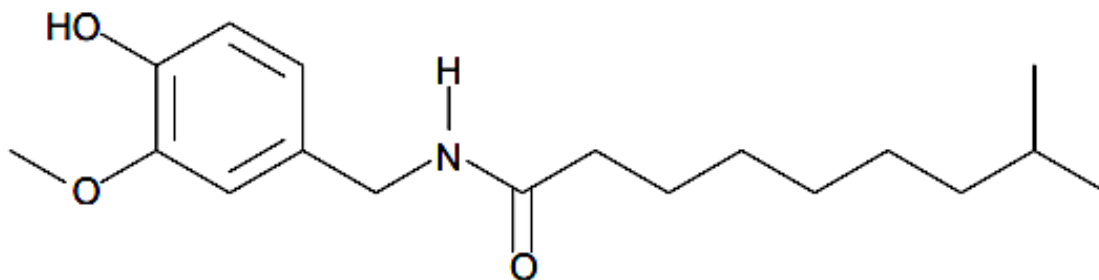


Ilustración 4: Estructura química de la dehidrocapsaicina

¹ Saca Zúñiga Juan Carlos

² Segarra Urgiléz Andrea Estefanía

La capsaicina tiene una influencia variada en los animales y los seres humanos. Tiene propiedades irritativas y analgésicas confirmadas, afecta la termorregulación y el metabolismo del tejido adiposo y se caracteriza por efectos antioxidantes, hipotensores, anticancerosos e incluso se puede utilizar como ingrediente en repelentes de insectos (Amruthraj et al., 2015)

Aunque la exposición excesiva a la capsaicina puede ser tóxica y causar irritación o problemas respiratorios, así como algunos tipos de cáncer debido a la ingestión de altas cantidades, la capsaicina se ha estudiado exhaustivamente por su prominente producto farmacéutico, neurológico y propiedades antioxidantes. Un uso común de la capsaicina es en los ungüentos anti-artríticos y antiinflamatorios, además los ensayos clínicos han demostrado que la capsaicina puede tener un valor potencial en el tratamiento de la artritis reumatoide y los dolores de cabeza en racimo al causar la liberación de un neurotransmisor sensorial, resultando en insensibilidad al dolor (Chinn, Sharma-Shivappa, & Cotter, 2011).

La capsaicina también tiene propiedades antibacterianas. Su actividad se confirmó en relación con bacterias como *Salmonella*, *Pseudomonas*, *Helicobacter* y *Streptococos*. La capsaicina tiene efectos bacteriostáticos, es decir, frena el desarrollo y reproducción de las bacterias (Chipantiza, 2017). Su acción está estrictamente relacionada con la concentración, a mayor concentración, mayor efecto y su mecanismo de acción implica crear estrés osmótico, destruir las estructuras de la membrana celular e inhibir la expresión de los genes responsables del crecimiento de las células bacterianas (Moreno-Limón et al., 2012).

Métodos de extracción

La extracción de la capsaicina se realiza utilizando específicamente solventes orgánicos, sin embargo, las eficiencias de extracción pueden variar con los pimientos, sus partes y el proceso de extracción previa (Giuffrida et al., 2013). Dos métodos que mejores resultados han dado tanto en rendimientos como en simplicidad son: extracción Soxhlet y Extracción por maceración. En los dos tratamientos el etanol es utilizado debido a su baja toxicidad para el ser humano y el ambiente (Melgar-Lalanne et al., 2017).

Pretratamiento de la muestra

Existen varios reportes que dicen mejorar la extracción al usar un pretratamiento, entre los cuales destacan:

- Pretratamiento químico: consiste en someter al fruto lavado a soluciones básicas (hidróxido de potasio) o ácidas débiles (ácido cítrico) debido a que se frena la

¹ Saca Zúñiga Juan Carlos

² Segarra Urgiléz Andrea Estefanía



actividad enzimática de descomposición y permite la extracción más eficaz del compuesto activo (Chinn et al., 2011).

- Secado: el secado permite mayor concentración de capsaicina en el fruto debido a la eliminación de agua del cuerpo, lo que permite mejores rendimientos. El secado (dependiendo de la variedad) se puede realizar de la siguiente manera: desecación osmótica, secado en estufa, al sol o naturalmente protegido de exposición directa a la luz (Dong et al., 2014)

Extracción Soxhlet

La extracción por el método Soxhlet está entre una de las técnicas más antiguas utilizadas para la migración de componentes desde un sólido a una fase líquida, empleando generalmente solventes orgánicos (Chipantiza, 2017). El mecanismo se da de la siguiente manera: el solvente que se encuentra en estado de ebullición, asciende por el extractor en forma de vapor, debido al mecanismo refrigerante, éste condensa y entra en contacto con la muestra sólida que se encuentra al interior del cartucho de Soxhlet, una vez evaporado todo el solvente, la cámara reboza y el líquido regresa por capilaridad al matraz para una nueva evaporación (Ilustración 5). Este es un proceso repetitivo que permite mayor contacto sólido/solvente e incrementa la concentración del principio activo en la fase líquida (Chuichulcherm, Prommakort, Srinophakun, & Thanapimmetha, 2013).

En la extracción de capsaicina por Soxhlet, los solventes con mayor eficiencia para la extracción de capsaicina son hexano y metanol. Sin embargo, no se utilizan debido a que presentan alta toxicidad (Akyuz et al., 2018). Se ha establecido además que, una extracción de 2 – 6 h es ideal para la capsaicina, debido a que, si se sobrepasa este tiempo, la capsaicina podría alterarse o degradarse. Sin embargo, experimentalmente el tiempo de extracción está ligado con la naturaleza del solvente (Baldeón-Apaestegui & Hernández-Gorriti, 2017). En la Ilustración 5 se presenta un esquema del proceso de extracción.

¹ Saca Zúñiga Juan Carlos

² Segarra Urgiléz Andrea Estefanía

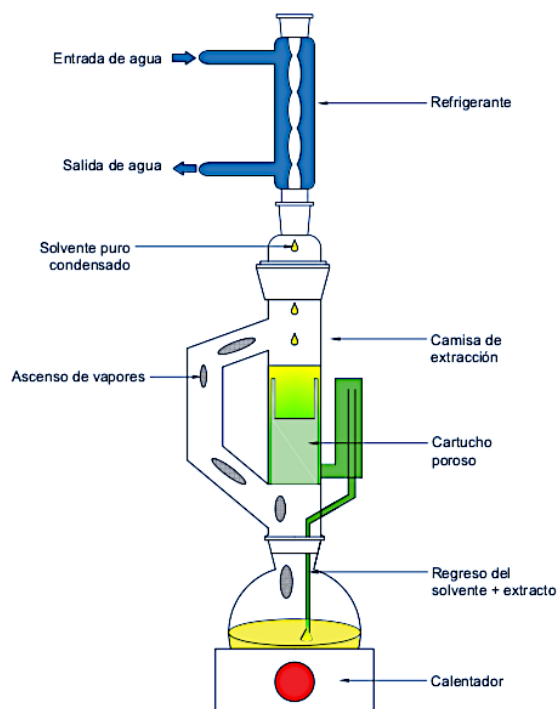


Ilustración 5. Extracción por Soxhlet

Maceración

La maceración es una extracción sólido-líquido en la cual se mezcla un solvente y una matriz sólida durante un tiempo adecuado de modo que se transfiera los componentes a un solvente en específico, sin acción mecánica. Los extractos de plantas se pueden preparar directamente a partir de fruta fresca o de frutas secadas (Hoyos, Martín, Solarte, & Orozco, 2007). Para evitar la degradación térmica, la maceración se realiza a temperatura ambiente o al vacío y protegido de la exposición directa de la luz.

El procedimiento básico consiste en transferir la muestra al solvente durante un período prolongado con una agitación diaria para extender el contacto sólido-solvente. Los disolventes más comunes utilizados son metanol, etanol, agua o una mezcla de ellos (Davis, Markey, Busch, & Busch, 2007). Generalmente, después de la maceración, la fase líquida que contiene el principio activo es separado por filtración o centrifugación y sometido a concentración (Pozo & Mejia, 2014). La Ilustración 6 muestra el esquema del proceso de extracción descrito.

¹ Saca Zúñiga Juan Carlos

² Segarra Urgiléz Andrea Estefanía

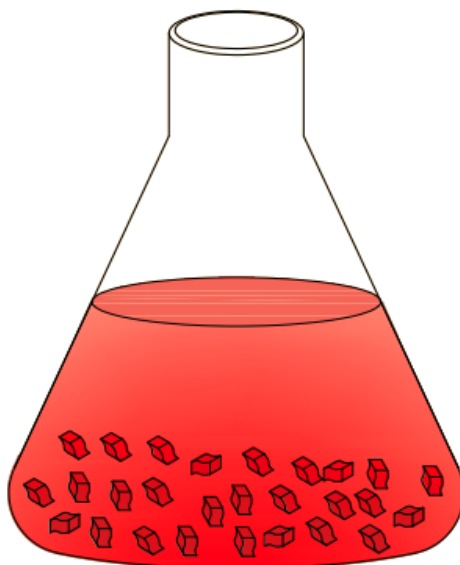


Ilustración 6. Extracción de capsaicina por maceración

POLÍMEROS

Existen varios polímeros que pueden ser usados en técnicas de electrohilado, sin embargo, siempre se eligen los que posean carácter biodegradable y compatibilidad ambiental. Polímeros que cumplen con estas características son los siguientes:

Polivinil Alcohol (PVA)

El PVA es un polímero sintético y biodegradable derivado del acetato de polivinilo a través de la hidroxilación parcial o total de la cadena (Kanatt et al., 2012). Entre sus características más relevantes están: solubilidad en agua, polímero semiamorfo, totalmente biodegradable, no tóxico y biocompatible con el ambiente y el ser humano, y se encuentra utilizado en un amplio espectro de aplicaciones (Keun Son, Ho Youk, Seung Lee, & Park, 2005).

La disolución completa del PVA en el agua está limitada por sus propiedades intrínsecas, que requieren que la temperatura del agua sea de 90 - 100 ° C con un tiempo de mantenimiento de 30 min - 30 h, aproximadamente. Todos los grados de PVA son hidrófilos y dependen de ciertos factores, como el peso molecular, las dimensiones de distribución del elemento y la estructura semiamorfo de las partículas (Gaaz et al., 2015).

Las propiedades del PVA dependen de la extensión o grado de su hidrólisis, específicamente si es total o parcial, que a su vez determina su clasificación en dos grupos mostrados en la Ilustración 7 (a) parcialmente hidrolizado y (b) completamente hidrolizado.

¹ Saca Zúñiga Juan Carlos

² Segarra Urgiléz Andrea Estefanía

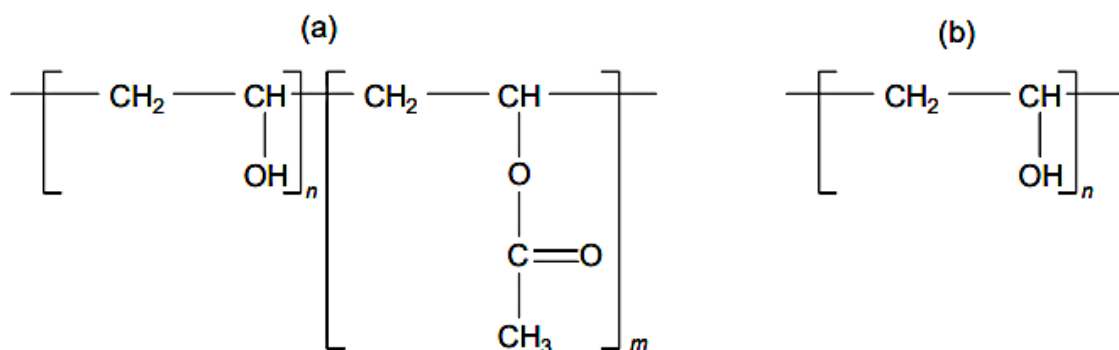


Ilustración 7. Estructura molecular del PVA (a) parcialmente y (b) completamente hidrolizado

El peso molecular del PVA puede variar entre (20,000 a 400,000 g/mol), dependiendo de la longitud inicial, el nivel de hidrólisis para eliminar los grupos de acetato ocurre en condiciones alcalinas o ácidas (Patil, Bohara, Meshram, Nanaware, & Pawar, 2019). Las fibras electrohiladas de PVA han sido estudiadas últimamente con respecto a los efectos de los parámetros de producción, la concentración, peso molecular, el disolvente y el pH, así como la presencia de aditivos, y la estabilidad térmica y química de las fibras. Una característica común de las fibras de PVA es su baja resistencia mecánica, que han desencadenado alternativas como, la síntesis de copolímeros, el postratamiento y la mezcla o la combinación con otros polímeros para mejorar esta propiedad (Peresin, Habibi, Zoppe, Pawlak, & Rojas, 2010). Este polímero se usa ampliamente al mezclarse con otros compuestos poliméricos, como los biopolímeros y otros polímeros con propiedades hidrofílicas; Se utiliza para diversas aplicaciones industriales para mejorar las propiedades mecánicas de las películas debido a su estructura compatible y propiedades hidrófilas (Ahmed et al., 2018; Alharbi et al., 2018). Debido a sus propiedades, se ha estudiado fibras basadas en PVA, consideradas como una opción atractiva en andamios tisulares, materiales de filtración, membranas, óptica, indumentaria protectora, inmovilización de enzimas, liberación de fármacos, etc. (Esmaeili & Beni, 2014).

Quitosano

El quitosano es un biopolímero obtenido de la desacetilación de su precursor, la quitina. La quitina es un polímero lineal que se obtiene de los desechos de mariscos (exoesqueleto y caparzones de crustáceos), altamente insoluble lo que limita sus aplicaciones (Kanatt et al., 2012). El quitosano es la forma desacetilada de la quitina y por este motivo, posee mejores propiedades de reactividad y solubilidad. La desacetilación consiste en la sustitución de los grupos acetamido de la quitina por grupos amino, en un medio de reacción fuertemente básico. El grado de desacetilación varía entre 60-90%. El quitosano es también un biopolímero catiónico

¹ Saca Zúñiga Juan Carlos

² Segarra Urgiléz Andrea Estefanía

lineal y de alto peso molecular que va desde 50 a 2000 KDa (Wahid et al., 2016). La estructura química del quitosano se observa en la Ilustración 8.

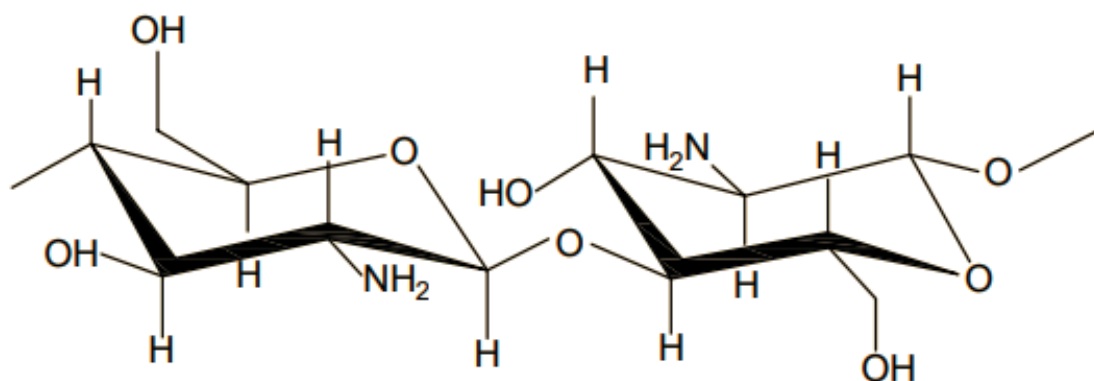


Ilustración 8. Estructura química del quitosano

Además, se disuelve fácilmente en soluciones ácidas de ácidos como: fórmico, acético, cítrico, clorhídrico pero no en ácido sulfúrico (Mármol et al., 2011).

El quitosano (Ch) es un biopolímero muy prometedor para la síntesis de fibras y películas a utilizarse dentro de la industria alimentaria, debido a su inmenso potencial para ser utilizado como material de empaque activo debido a su actividad antimicrobiana, no toxicidad y baja permeabilidad al oxígeno (Itoh et al., 2016; Patil et al., 2019).

Además se ha demostrado las cualidades antibacterianas y antifúngicas que presenta este biopolímero, por lo que su uso como pesticidas en la agricultura o en el tratamiento de aguas está siendo explotado (Almasi, Jafarzadeh, & Mehryar, 2018). La actividad antimicrobiana del quitosano difiere del microorganismo, en el caso de los hongos, el polímero se comporta como fungistático inhibiendo la formación de esporas e hifas. En el caso de bacterias, la actividad antibacteriana es más compleja, difiere entre bacterias Gram-positivas y Gram-negativas, sobre las cuales posee tres mecanismos antibacterianos (V & Arias, 2012):

- Carácter catiónico: los grupos aminos de las cadenas de quitosano se hallan parcialmente protonados, que, al entrar en contacto con algunos microorganismos que poseen aniones en su membrana o pared celular, desequilibrando la molécula hasta causarles la muerte (Cheah et al., 2019).
- Agente quelante: la estructura del quitosano actúa como quelante en condiciones ácidas, acomplejando metales trazas, inhibiendo del desarrollo microbiano y producción de toxinas (Kurniasih, Purwati, Cahyati, & Dewi, 2018)
- Penetración a la célula: el tercer mecanismo se suscita cuando el quitosano de bajo peso molecular ingresa a la célula interfiriendo en su crecimiento, ya que

¹ Saca Zúñiga Juan Carlos

² Segarra Urgiléz Andrea Estefanía

inhibe la acción de varias enzimas indispensables para el desarrollo celular (Ahmed et al., 2018).

El quitosano además tiene la capacidad de formar películas por sí solo, por lo que se estudia su capacidad para la formación de nanofibras a través del electrohilado que potencien sus cualidades antimicrobianas (Kanatt et al., 2012). El electrohilado de quitosano es extremadamente difícil debido a su baja solubilidad, estabilidad y propiedades mecánicas. Para abordar esto, los polímeros como el PVA se han mezclado con quitosano para mejorar las propiedades mecánicas de las nanofibras (Esmaeili & Beni, 2014).

ESTUDIOS DE LIBERACIÓN

El término “liberación de fármacos” se define como proceso en el cual los solutos de la matriz migran desde la posición inicial en el sistema polimérico a la superficie exterior del polímero y luego al medio de liberación para ejecutar su función predeterminada (Fu & Kao, 2010).

Mecanismos de liberación comunes se deben al hecho de que, nanopartículas o cualquier principio activo es introducido en una matriz semicristalina que permite mejor dispersión y estabilidad del material (Cruzat Contreras et al., 2011). Producto de esta conjugación son las nanofibras de PVA-Quitosano que encapsulan nanopartículas y otros principios activos para mejorar la actividad catalítica y una liberación más controlada (Almasi et al., 2018). La administración dirigida del principio activo mediante nanofibras electrohiladas se basa en la idea de que la tasa de disolución del mismo aumenta con un incremento del área de superficie del portador y del fármaco en sí además de la eficiencia mejorada y la toxicidad reducida (Haider et al., 2018). La liberación de los principios activos a partir de matrices de nanofibras se debe principalmente a los mecanismos de desorción de la superficie de las nanofibras (hinchamiento), difusión a través de los canales y poros de las nanofibras (difusión Fickiana) o degradación de la matriz (erosión). La cinética de liberación se ve afectado por varios factores resumidos en tres grupos:

- Material de la matriz: composición, estructura, degradación, hinchazón (Pillay et al., 2013).
- Medio de liberación: pH, temperatura, fuerza iónica, etc. (Arifin, Lee, & Wang, 2006).
- Composición del principio activo: solubilidad, estabilidad, interacción con la matriz, etc.

¹ Saca Zúñiga Juan Carlos

² Segarra Urgiléz Andrea Estefanía

Cinética de liberación en modelos matemáticos

Existen modelos matemáticos que estudian el comportamiento de los fenómenos físicos y químicos involucrados en los procesos de liberación de los principios activos, puesto que éstos no siguen un modelo universal (Fu & Kao, 2010). El propósito del modelado matemático es simplificar el complejo proceso de publicación y obtener información sobre los mecanismos de liberación de un sistema de material específico (Arifin et al., 2006). Los modelos matemáticos más importantes y con mejor ajuste a la cinética de liberación son:

- Modelo de Orden Cero: cinética de liberación lineal, en donde el fármaco se libera mediante erosión continua de la matriz. La ecuación es válida para matrices tipo esferas, pellets y placas (Kajdič, Planinšek, Gašperlin, & Kocbek, 2019).
- Modelo de Higuchi: hace referencia a una liberación mediante difusión de Fickiana, en la cual el polímero tiene un proceso de relajación mayor que el tiempo de difusión del disolvente característico. Se presenta principalmente en polímeros no degradables, en donde la liberación del fármaco se da mediante el hinchamiento de la membrana (Higuchi, 1963).
- Modelo de Korsmeyer & Peppas: modelo que se adecúa a matrices con baja difusión y alta capacidad de hinchamiento, causando desintegración del polímero y liberación del principio activo esperado (Korsmeyer, Gurny, Doelker, Buri, & Peppas, 1983).
- Modelo de Schott: modelo usado ampliamente para describir el hinchamiento de hidrogeles. (León-Fernández, Rieumont-Briones, Bordallo-López, & López-Hernández, 2014).

Se han desarrollado modelos bien establecidos para describir el transporte de solutos en función de cada uno de los modelos mencionados, sin embargo, existe mucho empirismo debido a que hay múltiples fuerzas impulsoras involucradas en un solo proceso de transporte, por lo que ciertos modelos pueden ser insuficientes para describir sistemas de materiales más complejos o multicomponentes (Bruschi, 2015).

¹ Saca Zúñiga Juan Carlos

² Segarra Urgiléz Andrea Estefanía

METODOLOGÍA

La extracción de capsaicina, la síntesis de nanopartículas se realizó en los laboratorios del Centro de Estudios Ambientales (CEA); los frutos del ají utilizados fueron adquiridos en mercados locales. La obtención de las nanofibras se realizó en el laboratorio de Sanitaria de la Facultad de Ingeniería en la Universidad de Cuenca. Los análisis de microscopía (MET y MEB) se realizaron en la Universidad de Concepción, Chile. Finalmente, la caracterización por IRTF se realizó en el laboratorio de Análisis Instrumental de la Facultad de Ciencias Químicas en la Universidad de Cuenca.

EQUIPOS, MATERIALES Y REACTIVOS

En la Tabla 1 y 2 se detallan los materiales, equipos y reactivos utilizados en cada punto de la experimentación.

Tabla 1. Reactivos y materiales

MATERIALES	REACTIVOS
Cuchillo plástico	Alcohol etílico absoluto (C_2H_5OH , 99.5 %) (BAKER)
Papel filtro	Ají Criollo (Capsicum annum)
Crises	
Tubos de ensayo	Cloruro de hierro (II) tetrahidratado ($FeCl_2 \cdot 4H_2O$) (MERK)
Vasos de precipitados	Cloruro de hierro (III) hexahidratado ($FeCl_3 \cdot 6H_2O$) (MERK)
Varilla de vidrio	Hidróxido de Amonio (NH_4OH , 65 %) (MERK)
Frascos de vidrio ámbar	
Erlenmeyer	Zinc Metálico (Zn) (SIGMA-ALDRICH)
Pipetas	Ácido Nítrico (HNO_3 , 65 %) (MERK)
Pera de succión	Nitrato de Plata ($AgNO_3$) (MERK)
Micro pipeta	Polivinilpirrolidona PVP (M = 40000) (SIGMA-ALDRICH)
Tubos microcentrífuga	Polivinil alcohol PVA (M = 146000-18600; 99 +% hidrolizado) (ALDRICH)
Imanes	
Fundas Ziploc	Ácido acético glacial (CH_3COOH 100 %) (MERK)
Papel aluminio	Agua desionizada
Cajas Petri	Quitano (≥ 75 % desacetilado) (SIGMA-ALDRICH)
Probetas	Ácido acético glacial (CH_3COOH 100 %) (MERK)
Pisetas	Agua desionizada

¹ Saca Zúñiga Juan Carlos

² Segarra Urgiléz Andrea Estefanía

Tabla 2. Equipos utilizados en la investigación

EQUIPOS	MARCA & MODELO	DESCRIPCIÓN
Equipo de extracción Soxhlet	BLASSCO	Equipo elaborado de borosilicato, con balón de capacidad de 500 ml.
Horno	QUINCY LAB	Horno con control tipo analógico, con rango de temperatura de: ambiente a 232 °C. Con convección por aire forzado o gravedad.
Rotaevaporador	BOECO GERMANY RVO 400 SD	Evaporador rotatorio con sistema digital de medición, elevador motorizado, con baño de calefacción y control de vacío incorporado.
Balanza analítica	SARTORIUS™ Entris™	Balanza de alta precisión con una legibilidad de 0,1 mg y capacidad de pesaje de 520 g.
Agitador magnético	TOPO HS 150	Agitador hasta 1500 RPM con pantalla digital y calentador hasta 380 °C.
Campana de extracción	-	-
Espectrofotómetro UV-Visible	Thermo Scientific-Génesis 10S	Equipado con una lámpara de xenón de alta intensidad y geometría óptica de doble haz. Intervalo de longitud de onda de 190 – 1100 nm. Intervalos de datos de barrido: 0.1 nm
Espectrofotómetro Infrarrojo	Thermo Scientific-Nicolet iS5	Equipo de tamaño compacto, equipado con accesorio iD5 ATR (con cristal de diamante). Detector DLA-TGS de alta sensibilidad. Resolución espectral superior a 0,8 cm ⁻¹ . Rango IR medio 4000-500cm ⁻¹
Centrífuga	Thermo Electric	Equipo con temporizador de 30 minutos y capacidad para 6 muestras.
Horno de vacío	SHEL LAB-SVAC 1	Horno equipado con control Watlow para programación de perfiles de rampa de temperatura. Rango de temperatura: Amb. +10 °C – 220 °C.
Autoclave de acero inoxidable revestido de teflón	PARR 4744	Capacidad: 45 ml.
Equipo de Electrohilado	Tong Li Tech TL-01	Equipo fácil de usar con controles de alta precisión. Potencia de salida: < 28 kV; Bomba de dos canales con Jeringas individuales. Velocidad de rotación del colector de 150 a 6000 RPM. Equipado con un extractor de aire y un calentador.
Microscopio Electrónico de Barrido	JEOL/JEM 6380 LV	Equipo de alta resolución de 3.0 nm con acelerador de voltaje de 20 kV; Con varias características automatizadas.
Microscopio electrónico de Transmisión	JEOL/JEM 1200 EX II	Equipo que permite realizar MET con muestras de sección delgada. Con resolución de red de 0,4 nm y voltaje de aceleración de 40 a 120 kV.
Sonicador	BRANSON 1800	Limpiador con calefacción hasta 69 °C y temporizador mecánico de 60 minutos.
Potenciómetro	Hanna Instruments HI 2221	Medidor de mesa para pH y temperatura con un indicador de estabilidad de lectura.

¹ Saca Zúñiga Juan Carlos

² Segarra Urgiléz Andrea Estefanía

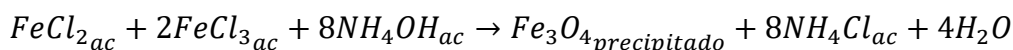
SÍNTESIS DE NANOPARTÍCULAS DE Zn-Ag-Fe

Para la síntesis de nanopartículas triples, se tomó como referencia reportes en bibliografía con algunas modificaciones. Para lo cual, se sintetizó primero nanopartículas de hierro por coprecipitación química luego, éstas serán incorporadas a un reactor solvotermal con precursores de nanopartículas de Zinc-Plata (Muñoz et al., 2017). Esta síntesis final en la que las tres nanopartículas se incorporan seguirá dos rutas de síntesis:

- Síntesis en una fase: Incorporación de Nps-Fe a los precursores de Nps-Zn-Ag en el reactor solvotermal en una sola fase.
- Síntesis en dos fases: Nps-Zn-Ag son sintetizadas en el reactor solvotermal, luego, en una segunda fase, se añaden Nps-Fe al reactor solvotermal para una segunda reacción.

Síntesis por coprecipitación química de nanopartículas de Fe

Para esta síntesis se utilizó soluciones de 1,28 M de cloruro de hierro (III) hexahidratado ($\text{FeCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$) y 0,64 M de cloruro de hierro (II) tetrahidratado ($\text{FeCl}_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$) preparadas en agua desionizada con fuerte agitación durante 30 min. De estas soluciones se tomó volúmenes de 12,25 ml de cada una y se mezclaron. Paralelamente, se preparó 250 ml de una solución 1,5 M de hidróxido de amonio (NH_4OH) la cual se utilizó como solución precipitante. La solución mezclada de las sales de hierro se cargó en una bureta y se fue añadiendo al hidróxido de amonio gota a gota, bajo agitación magnética a 1000 RPM y 30 °C durante 30 min. Durante todo el proceso de síntesis se mantuvo a los precursores en atmósfera de nitrógeno para evitar la oxidación del Fe^{2+} . La reacción de coprecipitación de Nps-Fe se dio mediante la Ecuación 1.



Ecuación 1. Obtención de Nps-Fe como magnetita

Finalmente, la Nps-Fe fueron lavadas varias veces con agua desionizada y separadas aplicando magnetismo externo, el sobrenadante fue desechado y el precipitado fue sometidas a secado en un horno de vacío a 70 °C, fue envasada en atmósfera inerte de nitrógeno y almacenada sin exposición a la luz directa. En la Ilustración 9 se diagrama el proceso seguido en la síntesis por coprecipitación.

¹ Saca Zúñiga Juan Carlos

² Segarra Urgiléz Andrea Estefanía

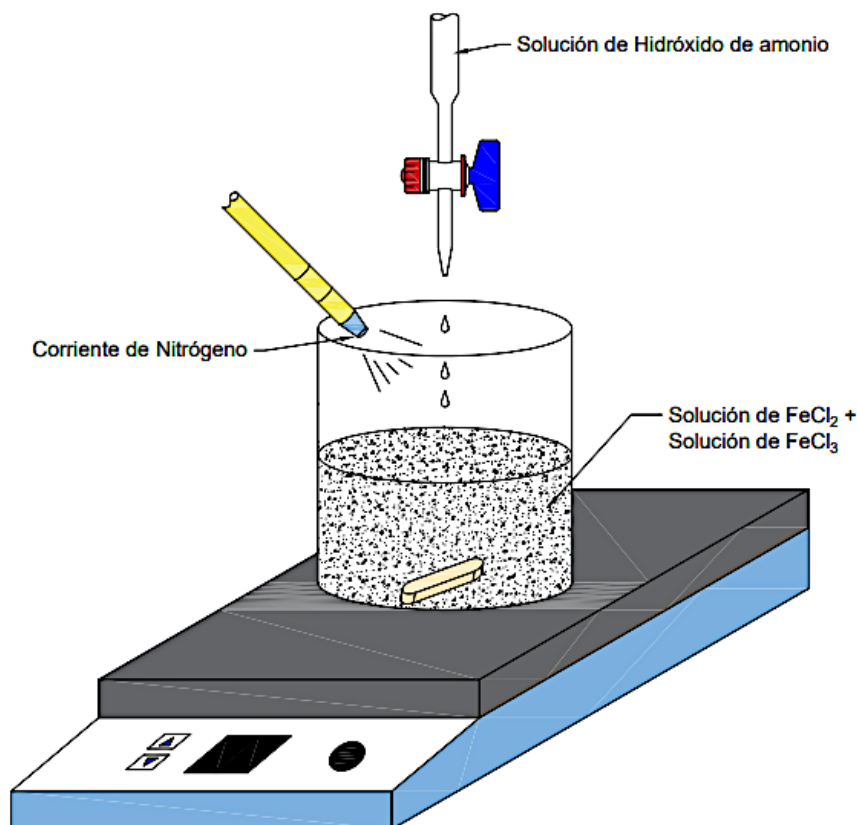
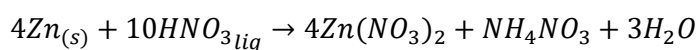


Ilustración 9. Síntesis de Nps-Fe por coprecipitación química

Síntesis solvotermal de nanopartículas de Zn-Ag-Fe

Antes de empezar las síntesis de las nanopartículas, preparamos primero el precursor Nitrato de zinc hexahidratado $[Zn(NO_3)_2 \cdot 6H_2O]$ mediante la reacción exotérmica de zinc metálico (Zn) con ácido nítrico concentrado (HNO_3), en relaciones molares, bajo una campana de extracción y en baño maría, manteniendo una temperatura externa por debajo de $25\text{ }^{\circ}C$. El control de la reacción se suscitaba en el cambio cualitativo de color del reactivo (color plateado metálico del zinc) en un líquido transparente sin precipitados. Este líquido transparente se dejó en reposo protegido de la luz directa y el aire durante 24 h para su cristalización.

Posterior a este tiempo, se obtuvo cristales blancos translúcidos de nitrato de zinc, los cuales fueron separados del escaso líquido no reaccionante. La reacción de obtención del precursor para Nps-Zn siguió la reacción química representada por la Ecuación 2. El producto obtenido fue almacenado en una caja Petri plástica dentro de un desecador.



Ecuación 2. Reacción de obtención de nitrato de zinc

¹ Saca Zúñiga Juan Carlos

² Segarra Urgiléz Andrea Estefanía



Para la síntesis en una sola fase, se mezclaron 0,375 mmol de nitrato de zinc, 0,075 mmol de nitrato de plata, 0,0075 mmol de PVP en 10 ml de etanol absoluto y se homogenizó por 10 min. Paralelamente, se sonicaron 1,5% (en peso de nitrato de zinc) de Nps-Fe en 10 ml de etanol absoluto durante 1 h hasta que la gran mayoría estén suspendidas. Adicionar cada una de estas mezclas a un reactor solvotermal, sellarlo cuidadosamente aplicando fuerza mecánica e introducido a un horno de vacío durante 3 h a 200 °C.

Para la síntesis en dos fases, se procede de la misma manera, la diferencia radica en que, en una sola fase ingresan los precursores de Zn-Ag con PVP y en 20 ml de etanol absoluto, el reactor se somete a reacción en el horno durante 3 h. Transcurrido este tiempo, el reactor se enfría al ambiente progresivamente, luego, son introducidas las nanopartículas de hierro previamente dispersadas y se reintroduce el reactor a una nueva reacción en el horno durante 3 h a 200 °C.

Al culminar las síntesis, en ambos casos, el reactor se deja enfriar al ambiente y el producto resultante se centrifugó durante 1 h a 3000 RPM. Los sobrenadantes fueron desechados, se adicionó agua desionizada y etanol absoluto al precipitado de modo que éste vaya lavándose y eliminando excedentes de reactivo sin reaccionar e interferentes, nuevamente se centrifugó por 30 min y se desechó el sobrenadante.

Este proceso se repitió 5-6 veces hasta que el agua de lavados saliera sin compuestos. El precipitado obtenido y previamente lavado, se transfirió a crisoles y se sometió a secado en la estufa a 80 °C durante toda la noche.

EXTRACCIÓN Y CONCENTRACIÓN DE CAPSAICINA

Pretratamiento de la muestra

Los ajíes fueron clasificados según su frescura y en estado óptimo de madurez, desechando los ajíes que estaban muy maduros, lacerados o aplastados. Se lavó los ajíes empleando agua destilada con precaución de no dañar los frutos, utilizando cepillos de cerdas suaves que ayuden a eliminar desechos de los mismos.

Los ajíes una vez lavados, se dejaron escurrir a temperatura ambiente, protegidos de la exposición directa a la luz durante 12 h (Baldeón-Apaestegui & Hernández-Gorriti, 2017). Para las extracciones, los ajíes cuidadosamente fueron separados en 5 zonas diferentes (Ilustración 10): semillas, placenta y cuerpo, que a su vez fueron separados en parte superior (puntas) y parte inferior (colas).

¹ Saca Zúñiga Juan Carlos

² Segarra Urgiléz Andrea Estefanía

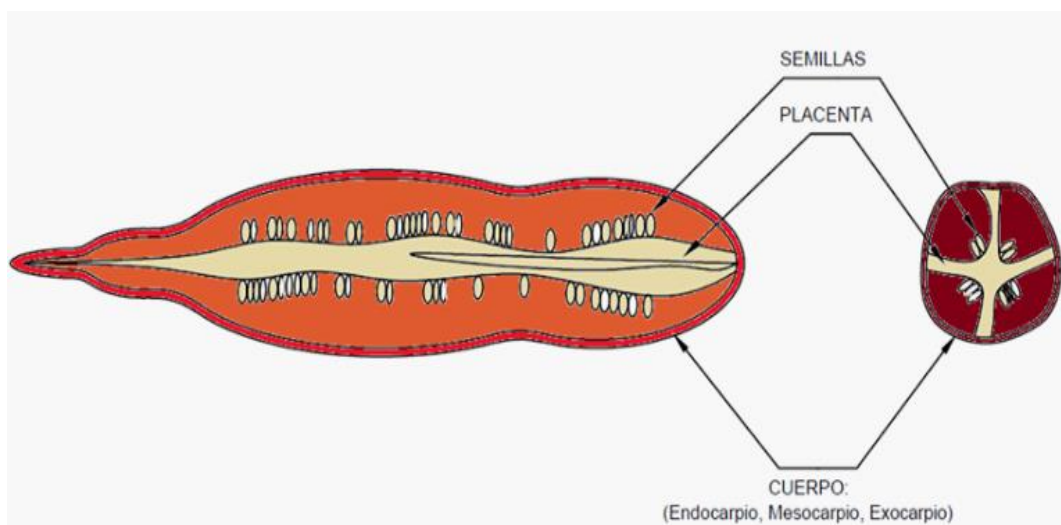


Ilustración 10. Partes del ají criollo

Para la separación se utilizó un cuchillo plástico para mantener la inocuidad del fruto. Los ensayos realizados se listan en la Tabla 3.

Tabla 3. Ensayos realizados para extracción de capsaicina del ají criollo

NO. ENSAYO	DESCRIPCIÓN
1	Semillas
2	Cuerpo
3	Placenta
4	Puntas
5	Colas

Extracción de capsaicina por el método Soxhlet

Primero se armó el equipo Soxhlet que consta de un matraz inferior que contiene el solvente, manta calefactora y equipo refrigerante como se observa en la Ilustración 4. Se pesaron entre 20 y 50 g de ajíes cortados, pretratados y se introdujeron en el cartucho de Soxhlet que consiste en un pequeño sobre de papel filtro (Baldeón-Apaestegui & Hernández-Gorriti, 2017).

Se utilizó 300 ml de etanol absoluto como solvente y en el extractor se colocó el cartucho con la muestra. Se procedió a encender la manta junto con el equipo refrigerante y se esperó hasta que el equipo se estabilice, a una temperatura de 80°C (Pozo & Mejia, 2014).

¹ Saca Zúñiga Juan Carlos

² Segarra Urgiléz Andrea Estefanía

Una vez equilibrado, el proceso de extracción tarda 6 h consecutivas (Dong et al., 2014). Finalmente, obtenido el extracto de capsaicina, se procedió a almacenar en frascos ámbar, en refrigeración a 4 °C y evitando toda exposición a la luz.

Extracción de capsaicina por maceración

Se sometió a maceración de 10 a 15 g de las partes seleccionadas del ají, en matraces Erlenmeyer de 250 ml. La maceración se realizó en 100ml de etanol absoluto por 72 horas, evitando la exposición directa a la luz (Baldeón-Apaestegui & Hernández-Gorriti, 2017). Este ensayo fue realizado por triplicado con la finalidad de observar repetitividad del proceso.

Transcurrido dicho tiempo, se procedió a la filtración de cada muestra usando papel filtro, la fase líquida fue almacenada en frascos ámbar en refrigeración a 4 °C para evitar la exposición a la luz.

Concentración de capsaicina

Para concentrar el extracto, de los dos procesos diferentes se procedió de la siguiente manera. Cada muestra por separado se sometió a evaporación rotatoria en donde se eliminó la mayoría del etanol. El equipo de rotaevaporación se calibró a temperatura de evaporación del solvente que es 70 °C (Chipantiza, 2017) y 664 mmHg de presión. Dentro del matraz de concentración se colocó el extracto de capsaicina, el cual estaba sumergido en un baño maría, se cerró el vacío prendiendo la bomba y se procedió a la concentración de los extractos aproximadamente 2 h hasta que haya eliminado la mayor parte del solvente (Pozo & Mejia, 2014).

Finalmente, el concentrado fue sometido a secado durante 24 h dentro de una estufa a 40 °C para eliminar los excedentes del solvente de la muestra (Dong et al., 2014). Durante todo el proceso se controló la temperatura e inocuidad del proceso.

Para obtener el porcentaje de extracción del principio activo del ají, se emplea la Ecuación 3:

$$\% \text{ Extracción} = \frac{\text{Peso}_{\text{inicial}} - \text{Peso}_{\text{seco}}}{\text{Peso}_{\text{inicial}}} * 100$$

Ecuación 3. Porcentaje de extracción del ají criollo

En la Ilustración 11 se resume todo el proceso de extracción de capsaicina.

¹ Saca Zúñiga Juan Carlos

² Segarra Urgiléz Andrea Estefanía

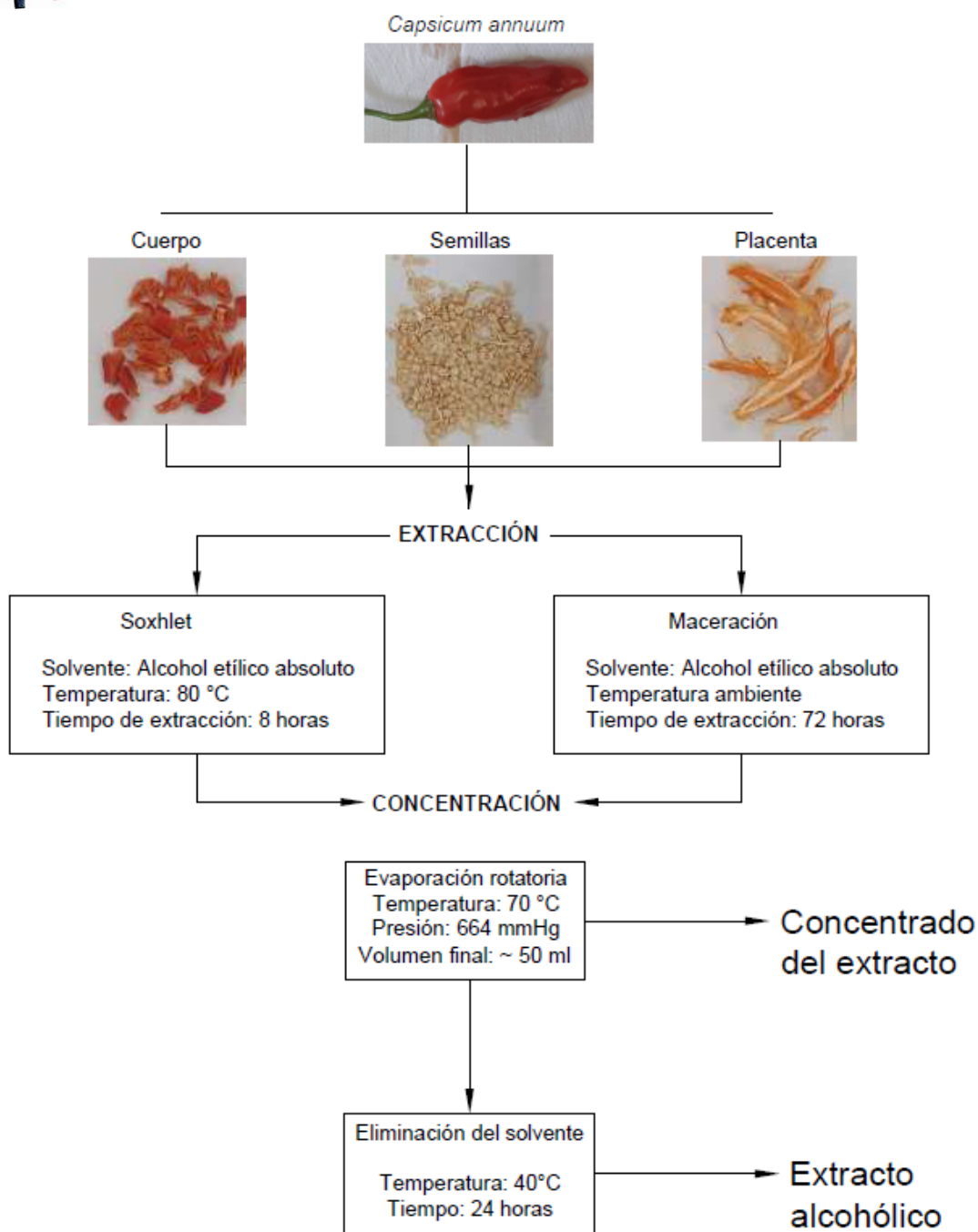


Ilustración 11. Extracción y concentración de capsaicina

ENCAPSULACIÓN DE NANOPARTÍCULAS Y CAPSAICINA EN FIBRAS DE PVA/QUITOSANO

Para proceder a la encapsulación de los principios activos dentro de la matriz polimérica, primero se preparó disoluciones de:

- PVA en agua destilada a concentraciones entre 4 a 7 %p/v
- Quitosano a concentraciones entre 1 a 2 %p/v en ácido acético diluido en concentraciones comprendidas entre 2 a 90 %v/v

¹ Saca Zúñiga Juan Carlos

² Segarra Urgiléz Andrea Estefanía

Se esperó hasta disolución completa evitando la formación de grumos o precipitaciones según recomienda Esmaeili y colaboradores (Esmaeili & Beni, 2014; Gaaz et al., 2015).

Las soluciones trabajadas se detallan en la Tabla 4.

Tabla 4. Soluciones ensayadas para electrohilado

PVA (%p/v)	QUITOSANO (%p/v)	Ac. Acético (%v/v)
5,00	1,00	2,00
5,00	2,00	2,00
7,00	1,00	2,00
7,00	2,00	2,00
7,00	1,50	90,00
5,00	1,50	90,00
4,00	2,00	90,00
4,00	2,00	50,00
4,00	2,00	25,00
4,00	2,00	10,00
4,00	2,00	2,00

Las soluciones se ensayaron a temperatura ambiente, en condiciones de electrohilado, dentro de los parámetros especificados en la Tabla 5.

Tabla 5. Parámetros ensayados en electrohilado

Parámetros	Rangos
Voltaje (kV)	12 a 22
Caudal (ml/h)	0,1 a 3,0
Calibre de aguja	23 a 20
Distancia aguja-colector (cm)	10
Velocidad rotación tambor (RPM)	250 a 300
Temperatura	18 a 21°C

Posteriormente, se procedió a la dispersión de nanopartículas Zn-Fe-Ag en concentración del 2 al 5 % en peso de polímero en capsaicina concentrada líquida de 1 al 5 % en peso de polímero, en la mezcla de polímeros y combinación de parámetros que demostró mejores resultados, para obtener las nanofibras mostradas en la Tabla 6.

Tabla 6. Descripción del contenido de las fibras

ENSAYO	DESCRIPCIÓN DEL CONTENIDO DE LA FIBRA
PC	Mezcla polimérica sola

¹ Saca Zúñiga Juan Carlos

² Segarra Urgiléz Andrea Estefanía

PCC	Mezcla polimérica + Capsaicina 2%
PCN	Mezcla polimérica + nanopartículas Zn-Ag-Fe al 2%
PCNC	Mezcla polimérica + nanopartículas Zn-Ag-Fe al 2% + Capsaicina 2%

Se procedió a la mezcla de polímeros con los principios activos y se cargó en una jeringa desechable de 20 ml. El tambor de recolección se cubrió con papel aluminio para que se depositen ahí las fibras formadas (Pillay et al., 2013; Rodríguez et al., 2019). En la Ilustración 12 se resume el proceso de fabricación de nanofibras.

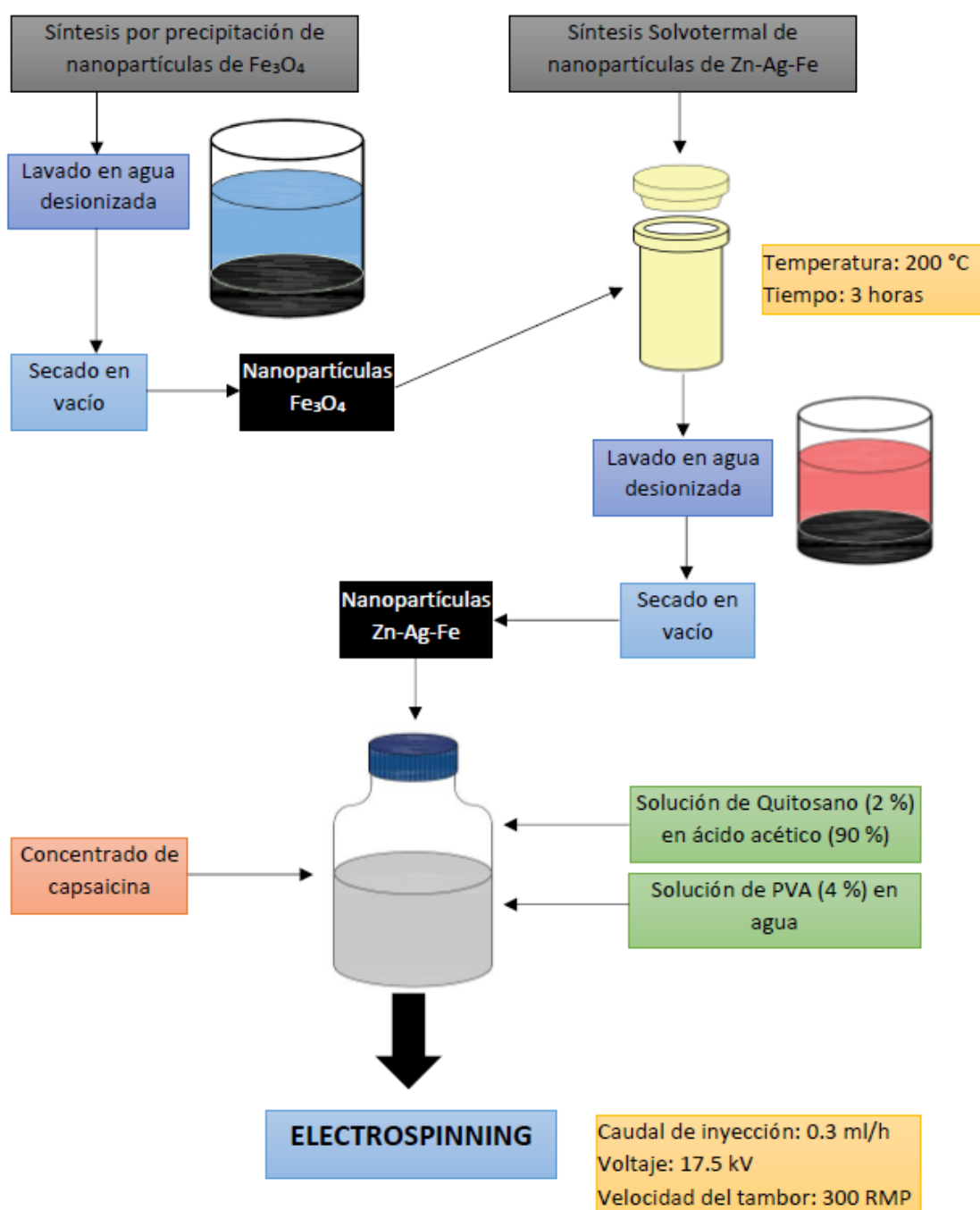


Ilustración 12. Proceso de obtención de nanofibras

¹ Saca Zúñiga Juan Carlos

² Segarra Urgiléz Andrea Estefanía

ESTUDIOS DE LIBERACIÓN DE NANOFIBRAS

Una vez obtenidas las nanofibras, se procedió a realizar el estudio de liberación en medio acuoso a diferentes pH (ácido, básico y neutro) de modo que simulen el medio de liberación (Fu & Kao, 2010; Kajdič et al., 2019).

Los pH ensayados simulan las condiciones del medio en donde se va a liberar las nanofibras para que realicen la actividad antifúngica, en este caso similar al medio de cultivo, se muestran en la Tabla 7.

Tabla 7. pH ensayados en los estudios de liberación

pH	Descripción
3,0	Ligeramente ácido (ácido acético)
6,5	Neutro (agua desionizada)
12	Ligeramente básico (hidróxido de amonio)

En un Erlenmeyer de 250 ml se adicionó 100 ml de agua destilada. Se liberó 30 mg de nanofibras en el medio acuoso, a temperatura ambiente, agitando constantemente a 300 RPM en una plataforma de agitación.

Previamente, se realizó una prueba preliminar con la finalidad de evaluar la velocidad de liberación de los principios activos. En tiempos comprendidos entre: 0,5,10,15,30,45,60,120,180,360,720,1440 minutos se procedió a tomar alícuotas de 2ml, a medir la absorbancia en el espectrofotómetro UV-Vis para obtener la concentración liberada en función del tiempo.

Con los datos obtenidos se elaboró un diagrama de correlación tiempo vs cantidad liberada para observar el comportamiento de las nanofibras. Los estudios de liberación se hicieron en función de la capsaicina y de nanopartículas.

Modelado matemático de la cinética de liberación

Se realizó un estudio matemático utilizando los principales modelos que son los mostrados en la Tabla 8.

Tabla 8. Modelos cinéticos empleados para los estudios de liberación

MODELO	ECUACIÓN	DESCRIPCIÓN
ORDEN CERO	$\frac{M_t}{M_\infty} = k \cdot t^n$	El proceso de liberación es controlado por la relajación de las cadenas poliméricas y, si la geometría del sistema no se altera, la velocidad de difusión es constante (Bruschi, 2015)
HIGUCHI	$\frac{M_t}{M_\infty} = k \cdot t^{0,5}$	El hinchamiento y disolución de la matriz polimérica es despreciable, mientras que la difusividad del compuesto a liberarse es se

¹ Saca Zúñiga Juan Carlos

² Segarra Urgiléz Andrea Estefanía

		<p>mantiene constante. Este modelo considera una difusión unidimensional ideal para películas o films poliméricos poco solubles (Higuchi, 1963)</p>
KORSMEYER & PEPPAS	$\ln\left(\frac{M_t}{M_\infty}\right) = \ln(k) \cdot \ln(t)$	<p>Explica el mecanismo de liberación donde se presenta erosión o disolución de la matriz polimérica. El factor “n” nos indica el mecanismo de liberación. $0,5 < n < 1$ Difusión anómala o no Fickiana. $n < 0,5$ existe una difusión parcial a través de una matriz hinchada a través de los poros llenos con agua (Korsmeyer et al., 1983)</p>
SCHOTT	$\frac{t}{M_t} = \frac{1}{M_\infty} + \frac{1}{M_\infty^2 \cdot k} \cdot t$	<p>El proceso de liberación es controlado por el hinchamiento de la membrana, pero tomando en consideración que la geometría del sistema es variable (Schott, 1992)</p>

Se emplearon los modelos matemáticos anteriores y se evaluó linealidad, mediante el coeficiente de correlación, el modelo que mejor ajuste demostró, se determinó los parámetros de liberación.

CARACTERIZACIÓN DE NANOPARTÍCULAS Y NANOFIBRAS

Para la detección y cuantificación de nanopartículas y capsaicina, se utilizaron las pruebas expuestas en la Tabla 9.

Tabla 9. Técnicas de cuantificación y caracterización empleadas

TÉCNICA	NANOPARTÍCULAS	CAPSAICINA	NANOFIBRAS
Espectroscopía Uv-Visible	X	X	
Espectroscopía Infrarroja Con Transformadas De Fourier IRTF	X	X	
Microscopía Electrónica De Barrido MEB			X
Microscopía Electrónica De Transmisión MET	X		

¹ Saca Zúñiga Juan Carlos

² Segarra Urgiléz Andrea Estefanía



Identificación de capsaicina y nanopartículas por Espectroscopía UV-Visible

Para la detección de capsaicina en los extractos obtenidos a partir del ají criollo, se realizaron barridos y rastreo de picos utilizando factores de dilución en etanol absoluto a una longitud de onda de 283 nm, en donde la capsaicina tiene pico de absorción característico (Baldeón-Apaestegui & Hernández-Gorriti, 2017; Davis et al., 2007).

Con las nanopartículas sintetizadas se realizaron barridos para detectar los picos de absorción de los nanometales, en caso del Zinc, exhibe un pico entre los 400-500 nm (Pascariu & Homocianu, 2019), en la Plata el pico se presenta de 393 a 404 nm y en caso del Nps-Fe no exhibe pico de absorción debido a su inestabilidad en solución (Mazrouaa et al., 2019).

Curva de calibración de capsaicina

Se utilizó una curva de calibración previamente elaborada en el laboratorio del Centro de Estudios Ambientales (CEA) de la Universidad de Cuenca-Ecuador mediante patrones preparados con Capsaicina de grado analítico. La curva de calibración está realizada en un rango de longitud de onda de a 280 nm.

Curva de calibración de nanopartículas

Para la construcción de esta curva de calibración utilizó nanopartículas sintetizadas mediante la metodología propuesta anteriormente. Se preparó una solución madre de 100 mg/l en agua destilada.

A partir de esta solución madre se prepararon patrones de 1, 5, 10, 15, 20, 25, 30, 40, 50, 60, 70, 80, 90 y 100 mg/l, y se midió absorbancia a una longitud de onda de 452 nm. Con los datos obtenidos se construyó la curva de calibración, considerando como efectivos los datos con coeficiente de correlación mayores a 0,99.

Caracterización por espectroscopía Infrarroja con Transformada de Fourier (IRTF)

Se utilizó el equipo de espectroscopía infrarroja del laboratorio de Análisis Instrumental de la Universidad de Cuenca. El equipo empleado fue Thermo Scientific Nicolet iS5 ATR. El objetivo de estos análisis fue obtener el espectro infrarrojo y los grupos funcionales presentes en la muestra analizada, en rangos de longitud de onda comprendido entre 400 y 4000 cm^{-1} de las muestras analizadas y compararlo con bibliografía con la finalidad de observar si se trata o no del mismo compuesto pretendido.

¹ Saca Zúñiga Juan Carlos

² Segarra Urgiléz Andrea Estefanía



Esta técnica se realizó con la oleorresina de capsaicina y con las nanopartículas en estado sólido.

Microscopía electrónica de barrido (MEB)

Esta técnica fue realizada sobre las nanofibras, en la Universidad de Concepción, utilizando un microscopio electrónico de barrido JEOL-JEM 63 80 LV, adaptado a un analizador INCA de Oxford Instrument © con acelerador de voltaje de 20 kV. La técnica consiste en extraer una fracción de fibras, colocarla en una grilla de cobre, cubrirla con una capa de oro, la cual será bombardeada con un haz electrónico fino proveniente de un filamento de tungsteno principalmente, la sonda electrónica escanea la fibra en dos direcciones perpendiculares y emite una micrografía según la luz desviada al choque de la materia con la luz (Egerton, 2016). Cada muestra fue rastreada, observada en cuanto a morfología y distribución de los principios activos dentro de las fibras.

Microscopía electrónica de transmisión (MET)

Esta técnica fue realizada sobre las nanopartículas, en la ciudad de Concepción-Chile, utilizando un microscopio electrónico de transmisión JEOL JEM 1,200 EX II, con una resolución 4 Å y 120 KV de operación a temperatura ambiente.

El equipo consta de una rejilla de cobre de MESH #200, sobre la cual las nanopartículas sólidas fueron dispersadas utilizando un solvente volátil y colocadas sobre la rejilla en forma de gota, dejando secar el solvente y permitiendo que las nanopartículas se dispersen uniformemente en el portamuestras (Egerton, 2016). El portamuestras se introduce en el MET y se realiza un bombardeo con un rayo de luz que traspasa la muestra y transmite la absorbancia. La técnica nos permite observar a detalle la forma de las nanopartículas, su estructura y distribución.

¹ Saca Zúñiga Juan Carlos

² Segarra Urgiléz Andrea Estefanía

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

SÍNTESIS DE NANOPARTÍCULAS DE Zn-Ag-Fe

Las nanopartículas triples de Zn-Ag-Fe fueron obtenidas mediante los procesos descritos en el capítulo anterior, los resultados de las experimentaciones se detallan a continuación.

Síntesis por coprecipitación química de nanopartículas de Fe

La síntesis de Nps-Fe se realizó tal como se observa en la Imagen 1a y 1b.



Imagen 1. a. Síntesis Nps por coprecipitación y b. producto obtenido en la síntesis

En la Tabla 10 se detallan los reactivos y cantidades empleados en la síntesis de nanopartículas de hierro obtenidas mediante coprecipitación química.

Tabla 10. Resultados de coprecipitación

Descripción		Molaridad	Masa (g)	Coloración pre-síntesis	Coloración post-síntesis
Precursores	FeCl ₂	0,64	0,8935	Anaranjado	Coloración Negra, precipitado y sobrenadante
	FeCl ₃	1,28	1,3402	Amarillo verdoso	
Medio de síntesis	NH ₄ OH	1,5	-	Incoloro	

Las sales precursoras, debido al estado de oxidación del hierro (Fe³⁺ y Fe²⁺) presentaban coloraciones características pre-síntesis, amarillo verdoso y anaranjado respectivamente.

La detección visual de la obtención de nanopartículas como óxido de hierro fue la formación del precipitado negro, que se suscitó cuando la solución precipitante fue agregada gota a gota a las sales precursoras, cambiando la coloración del medio. El uso de la atmósfera inerte de nitrógeno es parte fundamental de la síntesis debido a

¹ Saca Zúñiga Juan Carlos

² Segarra Urgiléz Andrea Estefanía

que impide la oxidación del Fe^{2+} . La reacción de coprecipitación permite la obtención de Nps de hierro en forma de óxidos, como se detalla en la Ecuación 2.

Esta reacción química corresponde a un intercambio iónico de Cl^{-1} con O^{-2} y una conjugación de FeO con Fe_2O_3 en una espinela cristalina en donde coexisten los dos cationes Fe^{2+} y Fe^{3+} (Alvear et al., 2017; Mazrouaa et al., 2019) con cualidades magnéticas apreciables, tal como se observa en la Imagen 2.



Imagen 2. Magnetismo de las Nps-Fe

El rendimiento teórico y práctico obtenido en la síntesis de las nanopartículas se detalla en la Tabla 11.

Tabla 11. Rendimientos obtenidos en la coprecipitación

Denominación		Masa molec. (g/mol)	Molaridad	Volumen (ml)	% Fe moléc	Masa reacción (g)	Masa Fe (g)	Rendimientos	
Precursor	FeCl_2	126,751	0,64	12,5	44,06 %	1,0140	0,4468	Teórico	100,00 %
	FeCl_3	162,204	1,28	12,5	34,43 %	2,5953	0,8935		
	Mezcla $\text{FeCl}_2 + \text{FeCl}_3$					3,6093	1,3403		
Prod.	Fe_3O_4	215,535	-	25	77,73 %	1,6143	1,2982	Real	93,62 %

Como se observa en la tabla anterior, el rendimiento de la reacción teórica refiere a una conversión total de los precursores salinos en óxidos, como consecuencia del exceso del medio oxidante NH_4OH , sin embargo, no todo el producto fue recuperado, debido a leves pérdidas suscitadas en la manipulación, lavado, secado y almacenado de las nanopartículas. Sin embargo, se ha obtenido excelentes rendimientos de 93,62 %.

¹ Saca Zúñiga Juan Carlos

² Segarra Urgiléz Andrea Estefanía

Síntesis solvotermal de nanopartículas de Zn-Ag-Fe



Imagen 3. Síntesis solvotermal, horno con autoclave

La Imagen 3 muestra el horno y el reactor solvotérmico utilizados en la síntesis de Nps. Para la síntesis solvotermal se realizaron múltiples ensayos. En cada proceso de síntesis se buscó la evaluación del producto obtenido en función del tiempo de reacción, fases, relación solvente/precursores y tiempo de centrifugación empleado en cada lavado, tal como se observa en la Tabla 12.

Tabla 12. Resultado de observaciones síntesis Nps Zn-Ag-Fe

Síntesis	Etapas	Precursores (mg)			Masa total precursores (g)	Solvente (ml)	Relación %p/v prec:solvente	T. reacción (h)	T. sonicación (min)	T. centrifugado c/etapa (min)	Rendimiento (mg)	Observaciones
		ZnNO ₃	AgNO ₃	Nps Fe								
1	1	74,3	8,5	1,1	82,8	13,3	0,62	3	90	30	6,3	Precipitado homogéneo, partículas magnéticas, coloración negro grisáceo
2	1	56,3	6,4	0,1	62,8	20,0	0,31	3	90	30	2,1	Precipitado homogéneo, partículas magnéticas, coloración negro grisáceo
3	1	223,0	25,5	3,4	248,5	20,0	1,24	3	90	60	18,1	Precipitado no homogéneo (separación en 2 fases), partículas no magnéticas, formación de dos fases inmiscibles.
4	1	111,5	63,7	1,7	175,2	20,0	0,88	3	90	60	18,1	Precipitado no homogéneo partículas no magnéticas, coloración plateada.
5	2	167,3	19,1	2,5	186,4	30,0	0,62	6	90	90	42,5	Precipitado de partículas grises y negras en cada fase de reacción, partículas no magnéticas.
6	1	167,3	19,1	2,5	186,4	30,0	0,62	3	90	90	45,7	Precipitado homogéneo, partículas magnéticas, coloración negro grisáceo
7	1	167,3	19,1	0,0	186,4	30,0	0,62	3	90	90	39,7	Precipitado homogéneo, claro, sobrenadante blanco, partículas blancas no magnéticas

¹ Saca Zúñiga Juan Carlos

² Segarra Urgiléz Andrea Estefanía

- **Influencia del tiempo de centrifugado:** La síntesis 1 fue realizada tomando en consideración todas las recomendaciones encontradas en bibliografía, sin embargo, se obtuvo rendimientos bajos debido a que el tiempo de centrifugado, en la separación del sobrenadante fue muy corto, lo que no permitió la precipitación total de las nanopartículas suspendidas en el medio. Este parámetro fue modificado hasta obtener mejor rendimiento en las posteriores experimentaciones, lo que se corroboró con el incremento en el peso del precipitado y un cambio en el aspecto del sobrenadante que en primeras experiencias se observó de aspecto lechoso y conforme incrementó el tiempo de centrifugado se volvió más translúcido y claro.
- **Influencia de la cantidad de solvente:** La síntesis 1, 2 y 3 se realizaron a diferente relación p/v de precursores/solvente con la finalidad de evaluar su influencia y producto final, obteniéndose los siguientes resultados: la relación 0,62 p/v de solvente fue la más efectiva conforme las recomendaciones de (Muñoz et al., 2017). Valores por debajo de este rango dieron similares resultados, pero con bajos rendimientos, caso contrario, solvente en menor cantidad como en la síntesis 3 no permitió la una síntesis adecuada debido a que no hubo una adecuada reacción de los precursores y ocasionó separación de fases. Esto se sustenta en el hecho de que, el medio de reacción es imprescindible para que ésta se dé, en bajas cantidades de medio, la reacción es incompleta (Rane et al., 2018; Šarić et al., 2019).
- **Influencia de los precursores:** En una cuarta experimentación se probó relaciones molares equitativas 1:1 de Zn-Ag, (experimentos anteriores mantienen una relación Zn-Ag de 5:1) con la finalidad de evaluar la influencia de la cantidad de plata en el dopaje del Zinc y el acoplamiento Zn-Ag específicamente, pero no dio buenos resultados. En primera instancia se observa la separación de dos fases inmiscibles, con diferente coloración, la primera presenta color plateado brillante y precipitado gris, el segundo presentaba coloración parda-rojiza con un precipitado negro; lo que nos sugiere que no hubo acoplamiento esperado de Zn-Ag-Fe. La plata al combinarse con el zinc en pequeñas cantidades, evita que el zinc se recombine entre sí, aumentando su actividad fotocatalítica y antibacterial (Muñoz et al., 2017) sin embargo, al incrementarse la cantidad de plata se infiere que esto impidió un acoplamiento Zn-Ag y ocasionó que éstas estructuras no se conjuguen, lo que originó diferentes tipos de precipitados, además perdieron la propiedad

¹ Saca Zúñiga Juan Carlos² Segarra Urgiléz Andrea Estefanía

magnética que se volvió característica en las demás síntesis en una sola fase, causado por la falta de coordinación de las 3 estructuras por la misma razón.

- **Influencia de la síntesis en una y dos fases:** la síntesis en una fase tuvo mejores cualidades que la realizada en dos fases. En la síntesis en una fase, las nanopartículas exhiben cualidades magnéticas apreciables, coloración negra y homogeneidad. En la síntesis en dos partes, no presentan magnetismo, su coloración cambia a gris claro y no se presentan homogéneas. Esto puede deberse al enfriamiento al que se somete al reactor para introducir las Nps-Fe y recomenzar la reacción, lo que origina que las estructuras no se acoplen con el hierro.

Finalmente, la síntesis 7, una vez optimizado el método, fue realizado bajo todos los parámetros establecidos como adecuados, esta síntesis ha sido reproducida ocho veces más y utilizado en los procesos posteriores de electrohilado.

EXTRACCIÓN Y CONCENTRACIÓN DE CAPSAICINA

En la Tabla 13 se detallan las propiedades organolépticas observadas en el ají criollo antes de la extracción.

Tabla 13. Características organolépticas ají criollo pre-extracción

CARACTERÍSTICAS	DESCRIPCIÓN
Coloración	Rojo brillante
Sabor	Dulce (cuerpo) picante (placenta)
Olor	Suigéneris
Textura	Lisa sin grumos ni laceraciones
Nivel de maduración	Óptimo
Tamaño promedio	10 cm largo x 2,5 diámetro aprox.

La extracción de capsaicina fue realizada según la metodología descrita en el capítulo anterior. A continuación, se detallan los resultados obtenidos.

¹ Saca Zúñiga Juan Carlos

² Segarra Urgiléz Andrea Estefanía

Extracción de capsaicina por el método Soxhlet

En la Tabla 14 se detallan las propiedades organolépticas observadas en el extracto de capsaicina obtenido por el método Soxhlet según la parte del ají utilizada en la extracción.

Tabla 14. Características observadas en el extracto de capsaicina

MUESTRA	COLOR	OLOR	INTENSIDAD PICOR
Semillas	Amarillo	Suigéneris	Leve
Cuerpo	Anaranjado	Dulce	Intermedio
Placenta	Rojo intenso	Muy picante	Alto
P. Superior	Anaranjado	Dulce	Intermedio
P. Inferior	Anaranjado	Dulce	Intermedio

Un estudio anterior a cargo de Yang y colaboradores en base a la coloración del extracto evidencian que, la concentración de capsaicina es directamente proporcional a la coloración roja del extracto, como se observa en la Tabla 13 y 14, el extracto con mayor intensidad de color es el que tiene mayor concentración de capsaicina (Yang et al., 2018).

Mediante la Ecuación 3 se obtuvo los porcentajes de extracción de capsaicina mediante Soxhlet de ají criollo se muestran en la Tabla 15, en donde se evidencia que la mayor concentración de capsaicina se encuentra en la placenta con un 94,33 % de extraído, seguido por 89,11 % en la parte inferior del cuerpo, en donde, se evidencia una similitud con la cantidad de capsaicina extraída de la parte superior del cuerpo, estos resultados coinciden con lo reportado por Giuffrida y colaboradores en donde demuestra en esta variedad de ají existe mayor concentración de capsaicina en la placenta (Giuffrida et al., 2013).

Tabla 15. Porcentaje de extracción de capsaicina en ají criollo

Muestra	Peso inicial (g)	Peso seco (g)	% Extracción
Semillas	21,4937	11,4586	46,69
Cuerpo	22,3483	2,5631	88,53
Placenta	20,0280	1,1352	94,33
Parte superior	23,1120	2,6326	88,61

¹ Saca Zúñiga Juan Carlos

² Segarra Urgiléz Andrea Estefanía

Parte inferior	22,3375	2,4319	89,11
-----------------------	---------	--------	-------

El extracto de capsaicina fue sometido a evaporación rotatoria con la finalidad de eliminar el exceso de solvente, el proceso duró aproximadamente dos horas. Al no observarse destilación de solvente, el extracto concentrado fue sometido a secado en estufa, a 40 °C durante 24 h. Las características del producto final se detallan a continuación en la Tabla 16.

Tabla 16. Características del extracto de ají concentrado

CARACTERÍSTICAS	DESCRIPCIÓN
COLOR	Rojo oscuro
OLOR	Suigéneris
TEXTURA	Viscosa
CANTIDAD	1,2 g

El extracto final de capsaicina de 300 ml, fue reducido a 1,2 g luego de la concentración descrita. La capsaicina, es un alcaloide sensible a la luz, pero no es sensible al calor por lo que, su concentración sometido a calor inducido no afecta su composición química, esto corrobora Dong y colaboradores (Dong et al., 2014).

Extracción de capsaicina por el método de maceración

El ensayo de extracción de maceración se realizó mediante el método establecido en el capítulo anterior, el ensayo fue realizado por triplicado para veracidad de resultados. En la Tabla 17 se muestra el porcentaje de extracción obtenido en las tres partes de ají ensayadas.

Tabla 17. Porcentaje de extracción de capsaicina por maceración

Muestra	Peso inicial (g)	Peso seco (g)	% Extrac.	Promedio %ext.
Semillas	7,5201	4,8400	35,63	35,70
	7,6202	4,9740	34,72	
	7,6011	4,8064	36,76	
Placenta	10,0252	2,6962	73,10	75,97
	10,1196	2,3941	76,34	
	10,0523	2,1627	78,48	
Cuerpo	15,0652	3,9795	73,58	73,63
	15,0456	4,0526	73,06	
	15,0954	3,8845	74,26	

¹ Saca Zúñiga Juan Carlos

² Segarra Urgiléz Andrea Estefanía

Como se aprecia en los resultados obtenidos, el mayor porcentaje de extracción de capsaicina por maceración se ve reflejado también en las venas con un 75,97 % de extracción, lo que corrobora los datos de extracción por Soxhlet, método con el cual también se obtuvo mayor extracción en esta parte del ají criollo. Sin embargo, se establece, que según los resultados obtenidos en extracto de capsaicina, el mejor método para la obtención de este alcaloide es la extracción Soxhlet (Pozo & Mejia, 2014).

OBTENCIÓN DE NANOFIBRAS EN ELECTROHILADO

Para la obtención de las fibras por electrohilado, luego de un extenso estudio, se determinó los siguientes parámetros experimentales mostrados en la Tabla 18.

Tabla 18. Parámetros experimentales de electrohilado

PARÁMETRO	DESCRIPCIÓN
Mezcla polimérica	PVA 4 % - Quitosano 2 %
Voltaje	17,5 kV
Caudal de alimentación	0,3 ml/h
Volumen de inyección	5 ml
Distancia aguja-colector	10 cm
No. De aguja	# 21
Rotación del tambor	300 RPM
Temperatura	18 a 21 °C

Las fibras obtenidas, presentaron las siguientes características, mostradas en la Tabla 19.

Tabla 19. Características de las fibras obtenidas

ENSAYO	CARACTERÍSTICAS DE LA FIBRA
PC	Las fibras de polímero solo, fueron un poco difícil de hilar, presentaban chorro de inyección intermitente y cristalización en la punta de la aguja constante, sin embargo, el hilado fue aceptable, desprendimiento de fibra defectuoso. Imagen 4a.

¹ Saca Zúñiga Juan Carlos

² Segarra Urgiléz Andrea Estefanía

PCC	<p>Las fibras con capsaicina mejoraron la estructura del cono de Taylor, el chorro era más continuo, pero con goteo, la cristalización del cono de Taylor disminuyó en comparación con la fibra anterior, lo que puede deberse a una disminución de la tensión superficial causada por el etanol presente en el extracto de capsaicina. Fibra más homogénea. Imagen 4b</p>
PCN	<p>Mejores condiciones de fibra, mejor hilado, mantención del cono de Taylor, menor cristalización, causado por la conductividad de los metales, lo que genera formación de fibras más continuas. Desprendimiento de fibra más versátil. Imagen 4c.</p>
PCNC	<p>Fibra de excelentes propiedades, no presentó goteo, hilado continuo, cristalización disminuida y cono de Taylor constante, esto se debió a la combinación de propiedades que le dieron los agregados tales como disminución de tensión superficial dado por el etanol del extracto de capsaicina y mayor conductividad dado por las nanopartículas metálicas. Desprendimiento de fibra más versátil. Imagen 4d.</p>

Las fibras obtenidas se muestran en la Imagen 4.

a. PC



b. PCC



c. PCN



d. PCNC



¹ Saca Zúñiga Juan Carlos

² Segarra Urgiléz Andrea Estefanía



CARACTERIZACIÓN DE PRODUCTOS OBTENIDOS

Análisis UV-Visible

Nanopartículas Zn-Ag-Fe

Se realizó medición de absorción para todos los precursores involucrados en la síntesis, se revisó picos referenciales de absorción de nanopartículas y se comparó los picos de absorción con los resultados obtenidos post-síntesis para observar coincidencias y se obtuvo los siguientes resultados de absorción detallados en la Tabla 20:

Tabla 20. Picos de absorción de referencia en síntesis de nanopartículas

Reactivo	Recurso	Pico de absorción (nm)
Zn(NO₃)₂	Medición directa	302
AgNO₃		312
NO₃⁻	Referencias bibliográficas	220 a 230 (Hernández-Alpizar & Coy-Herrera, 2015)
Nps-ZnO		190 a 400 (Muñoz et al., 2017)
Nps-Ag		410 a 450 (Sikder et al., 2018)
Nps-Zn-Ag		553 (Muñoz et al., 2017)

Una vez determinado los picos de absorción que podrían ser interferencia en nuestro barrido de nanopartículas, se procedió a obtener el barrido del sobrenadante de la síntesis de nanopartículas como se muestra en la Imagen 5.

¹ Saca Zúñiga Juan Carlos

² Segarra Urgiléz Andrea Estefanía

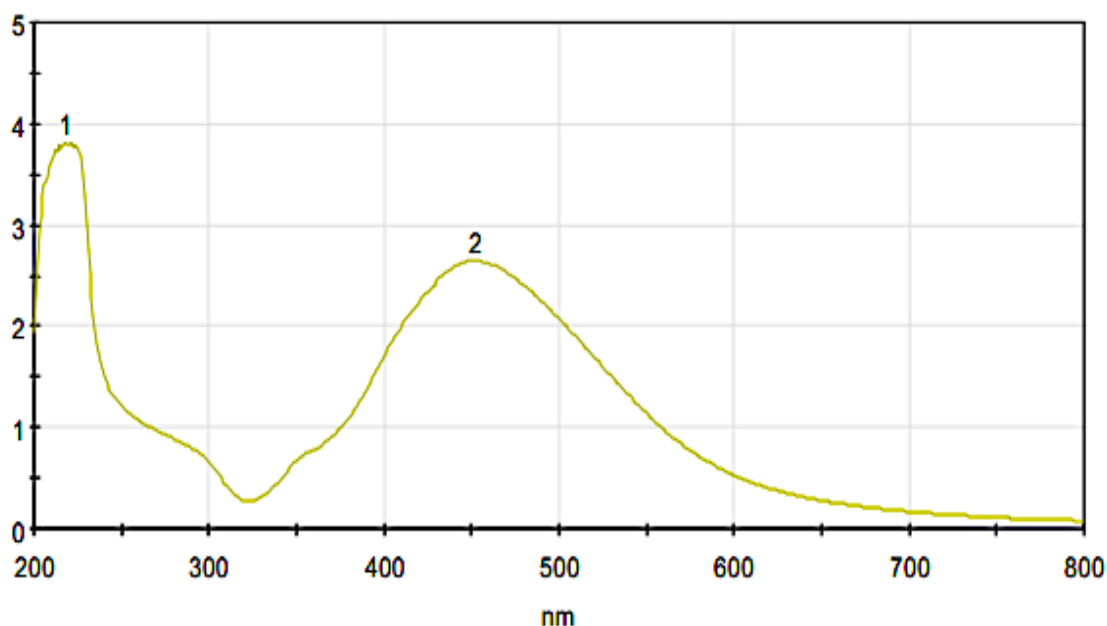


Imagen 5. Espectro UV-Vis nanopartículas

Las nanopartículas metálicas interactúan con la luz visible como consecuencia de la gran densidad de electrones conductores, sus dimensiones de confinamiento de tamaño son más pequeñas que la ruta libre media, y la dependencia de frecuencia única de las partes reales e imaginarias de la función dieléctrica en el metal, lo que colectivamente resulta en la existencia de resonancias de plasmones superficiales (Kumar, Bar, Sarkar, Prasad, Prasad, Misra, 2008; Sangeetha, Rajeshwari, Venckatesh, 2011)

En el espectro se observa dos picos de absorción a 218 y 452 nm. El primer pico, según Hernández y colaboradores corresponde a la absorbancia del ion nitrato, presente en el sobrenadante como excedentes de precursores utilizados. El segundo pico, (dado a que no hay coincidencias con los picos de referencia en la Tabla 19 que podrían hacer interferencia) corresponde a las nanopartículas sintetizadas Zn-Ag-Fe, pico que se hizo característico en todas las muestras medidas.

Curva de calibración de nanopartículas

Para obtener la curva de calibración de nanopartículas (Ilustración 13), una vez determinado el pico de absorción a 452 nm, se procedió a realizar una curva de calibración con patrones de nanopartículas obtenidas en la síntesis 7 utilizando concentraciones de 1, 5, 10, 15, 20, 23, 30, 40, 50, 60, 70, 80 y 90 ppm. El resultado de este ensayo se muestra en la Ilustración 15. La ecuación de curva de calibración obtenida y el coeficiente de correlación es aceptable con un valor de 0,9982.

¹ Saca Zúñiga Juan Carlos

² Segarra Urgiléz Andrea Estefanía

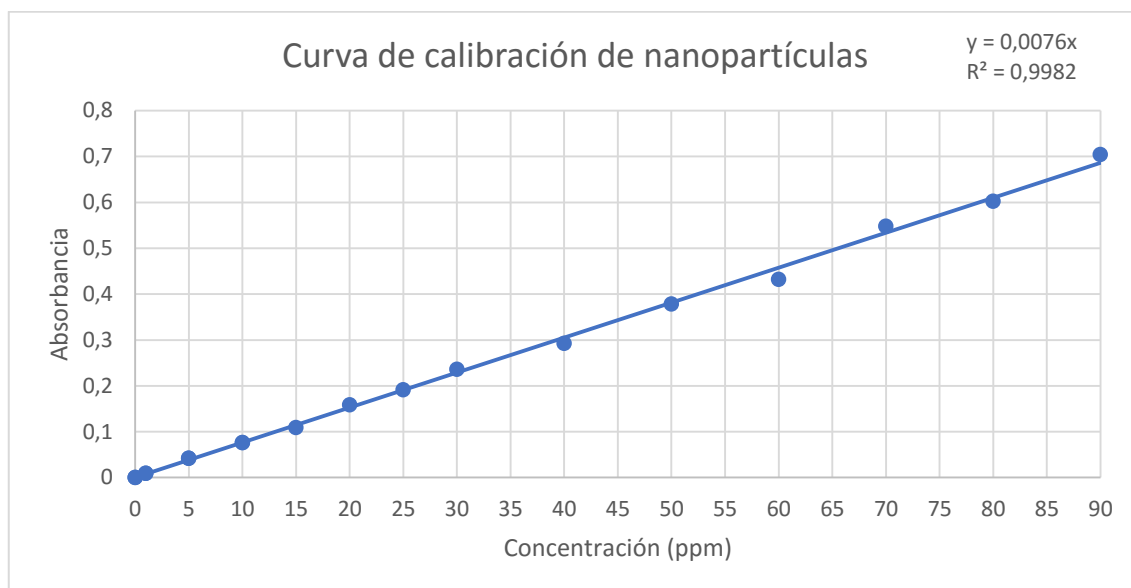


Ilustración 13. Curva de calibración de nanopartículas

Capsaicina extraída del ají criollo

Para el extracto de capsaicina se realizó barrido UV-Vis de 100 a 900 nm y se obtuvo el espectro de la Imagen 6 en donde se observa la presencia de dos picos, a 213 y 283 nm. El primer pico, según la longitud de onda absorbida, corresponde a capsaicinoides del ají criollo (Davis et al., 2007) y el segundo pico detectado corresponde a capsaicina (Hoyos et al., 2007).

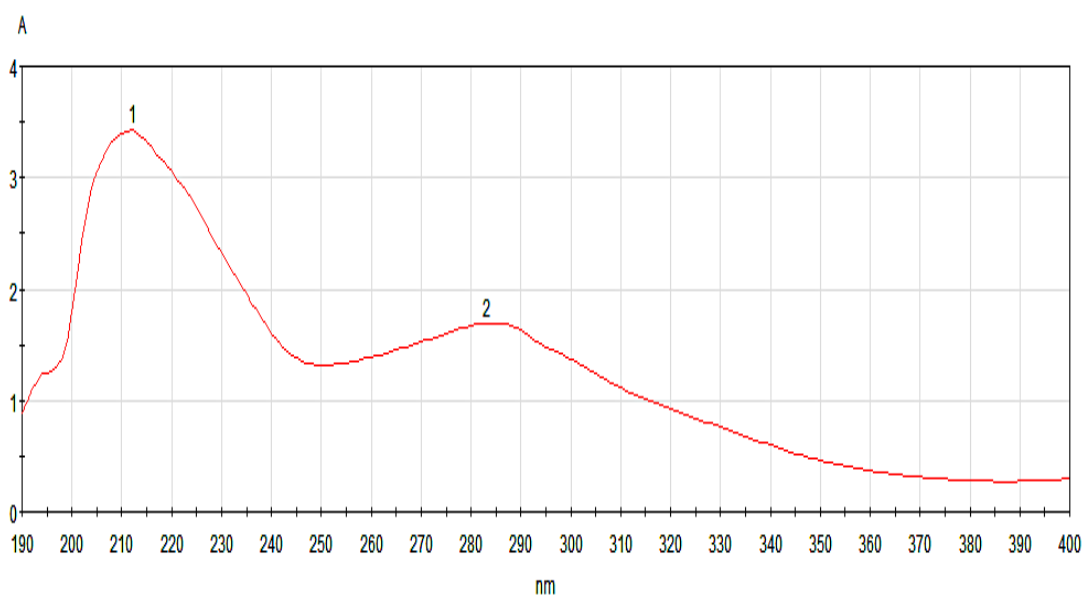


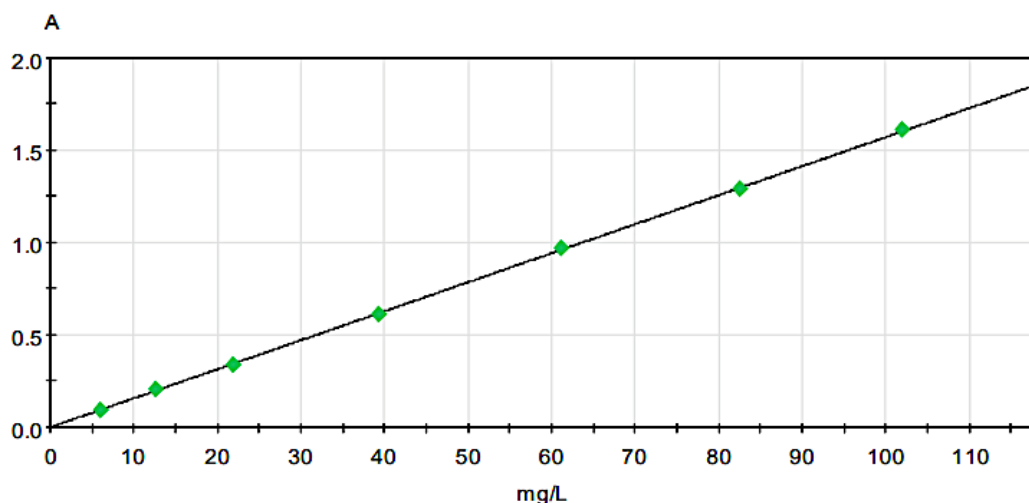
Imagen 6. Espectro UV-Vis de capsaicina

Curva de calibración de capsaicina

¹ Saca Zúñiga Juan Carlos

² Segarra Urgiléz Andrea Estefanía

La curva de calibración de capsaicina fue obtenida mediante patrones de capsaicina pura, a una longitud de onda de 280 nm en el laboratorio del Centro de Estudios Ambientales (CEA) de la Universidad de Cuenca-Ecuador el 28 de septiembre del 2018, la curva mencionada se observa en la Ilustración 14. La ecuación de curva de calibración obtenida y el coeficiente de correlación es aceptable con un valor de 0,99990.



Parámetros de la curva: $y = 1.570937E-02 x$
 Residuos: 0.0093 Coeficiente de Correlación: 0.99990
 Fecha: 2018-09-28 12:30:06 PM

Ilustración 14. Curva de calibración de capsaicina Obtenido de: CEA

Extracción Soxhlet

Se cuantificó la capsaicina presente en los extractos obtenidos de las diferentes partes del fruto del ají criollo sin concentrar, obtenidos por método Soxhlet. Los resultados se muestran en la Tabla 21.

Tabla 21. Cuantificación del extracto de capsaicina obtenido por Soxhlet

Muestra	Concentración (ppm)
Semillas	472,33
Cuerpo	541,08
Cuerpo parte superior	593,91
Cuerpo parte inferior	551,90
Placenta	973,94

Como se observa en los resultados, se tiene una concentración de capsaicina mayor en la placenta, con 973,94 mg de capsaicina por ml de solución, esto corrobora los resultados preliminares en los que se especulaba mayor concentración de capsaicina en el extracto de placenta, mostrado por el color, nivel de picor y el porcentaje de

¹ Saca Zúñiga Juan Carlos

² Segarra Urgiléz Andrea Estefanía

extracción. El extracto de capsaicina obtenido de la placenta, se concentró por evaporación rotatoria y se obtuvo los siguientes resultados mostrados en la Tabla 22.

Tabla 22. Resultados de capsaicina concentrada de placenta de ají criollo

DENOMINAC.	CONCENTRAC. FINAL	DESCRIPCIÓN
Placenta	4900,5 ppm	Solución viscosa, coloración roja intensa.

Como muestran estudios anteriores de Giuffrida y colaboradores, se determinó que el máximo concentración de capsaicina se encuentra en la placenta del ají criollo (Giuffrida et al., 2013).

Extracción por maceración

Se cuantificó la capsaicina presente en los extractos obtenidos de las diferentes partes del fruto del ají criollo sin concentrar, obtenidos por maceración. Los resultados se muestran en la Tabla 23.

Tabla 23. Cuantificación del extracto de capsaicina obtenido por maceración

Muestra	Concentración (ppm)
Semillas	48,80
Placenta	241,26
Cuerpo	139,41

Como se observa en los resultados, en la Tabla 23 se tiene una concentración de capsaicina mayor en la placenta con 241,26 mg de capsaicina por ml de solución, este resultado corrobora los resultados obtenidos en extracción Soxhlet, en el cual, la mayor concentración de capsaicina en el ají criollo se encuentra en esta parte del fruto.

Espectroscopía Infrarroja con transformadas de Fourier (IRTF)

Se realizó barridos en el equipo de espectroscopía infrarroja del laboratorio de Análisis Instrumental de la Universidad de Cuenca. El equipo empleado fue Thermo Scientific Nicolet iS5. El objetivo de estos análisis fue obtener el espectro infrarrojo y los grupos funcionales presentes en la muestra analizada, en rangos de longitud de onda comprendido entre 500 y 4000 cm^{-1} de las muestras analizadas y compararlo con una base de datos, con la finalidad de observar si se trata o no del mismo compuesto pretendido. Esta técnica se realizó con el concentrado del extracto del ají y con el sobrenadante de las nanopartículas.

¹ Saca Zúñiga Juan Carlos

² Segarra Urgiléz Andrea Estefanía

Nanopartículas Zn-Ag-Fe

Con la finalidad de eliminar interferencias, se ha determinado los siguientes picos IR para los precursores basados en experimentación, lo expuesto se detalla a continuación (Tabla 24):

Tabla 24. Picos IR de referencia en síntesis de nanopartículas

Asignación	Pico observado (cm^{-1})
Estiramiento C—O	1084 y 1044
Estiramiento C—H	2983
Estiramiento O—H	3600 a 3000

Las nanopartículas sintetizadas en una y dos fases presentan un espectro IR muy similares, son los picos asociados al etanol, el espectro es el mismo que el etanol puro donde se marcan las vibraciones típicas de este compuesto. Esto debido a que la cantidad de etanol es muy superior sobre la cantidad de Nps, tal como se observa en la Imagen 7 y 8. La diferencia se muestra en la imagen 8 donde los estiramientos C—O se incrementan significativamente, debido a la asociación del etanol con la Nps como lo propone Meléndrez y colaboradores (Vernon-Carter et al, 2019; Meléndrez, M.et al.,2009).

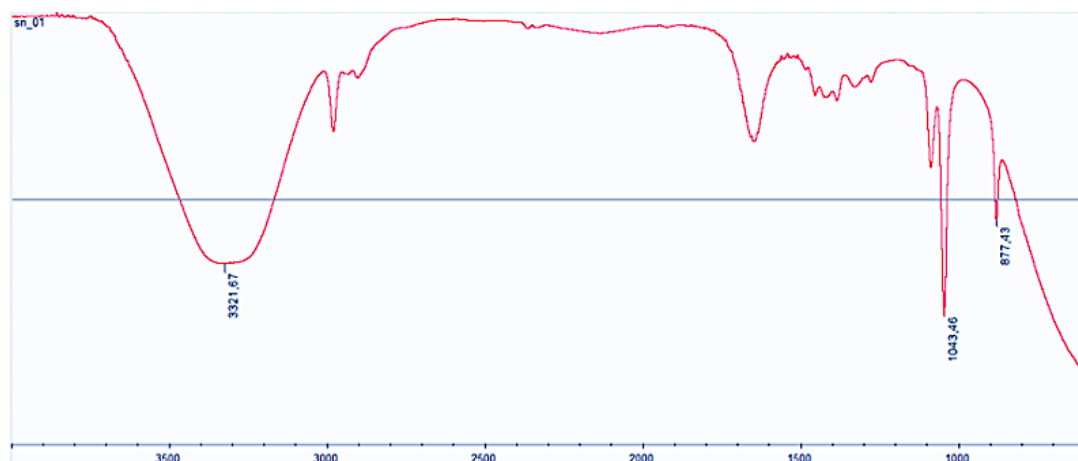


Imagen 7. Espectro IR Nps Zn-Ag-Fe en una fase

¹ Saca Zúñiga Juan Carlos

² Segarra Urgiléz Andrea Estefanía

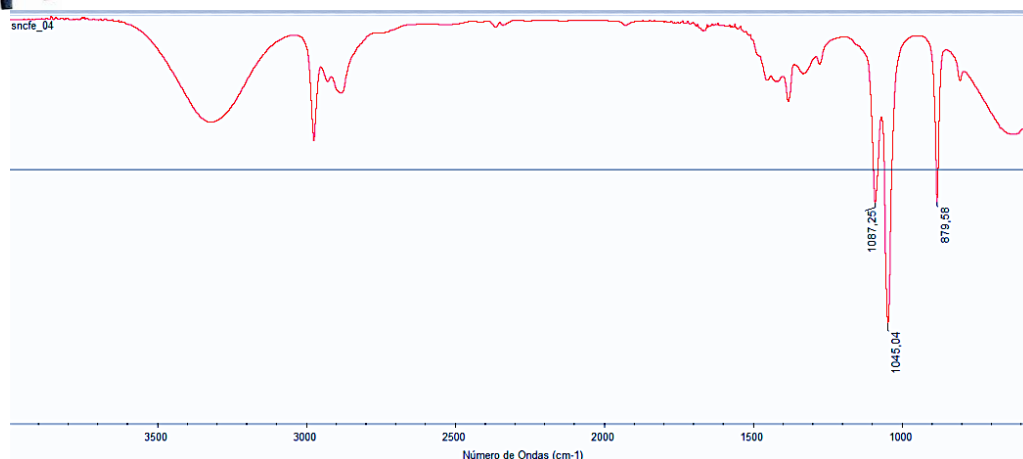


Imagen 8. Espectro IR Nps Zn-Ag-Fe en dos fases

Análisis de Microscopía electrónica de transmisión MET

Se realizó microscopía electrónica de transmisión a las muestras sólidas de nanopartículas sintetizadas en la Universidad de Concepción-Chile y se obtuvo acercamientos de los productos con los cuales se pudo observar su morfología, tamaños y dispersión. Los estudios fueron realizados sobre nanopartículas en una y dos fases.

Síntesis de nanopartículas en una sola fase

Las nanopartículas sintetizadas en una fase (Imagen 9) presentan morfología regular, el zinc se presenta en formas hexagonales con bordes redondeados, la plata presenta formas triangulares también de bordes redondeados y el hierro se presenta en forma de discos. Las tres estructuras se presentan en forma aglomerada y dispersas.

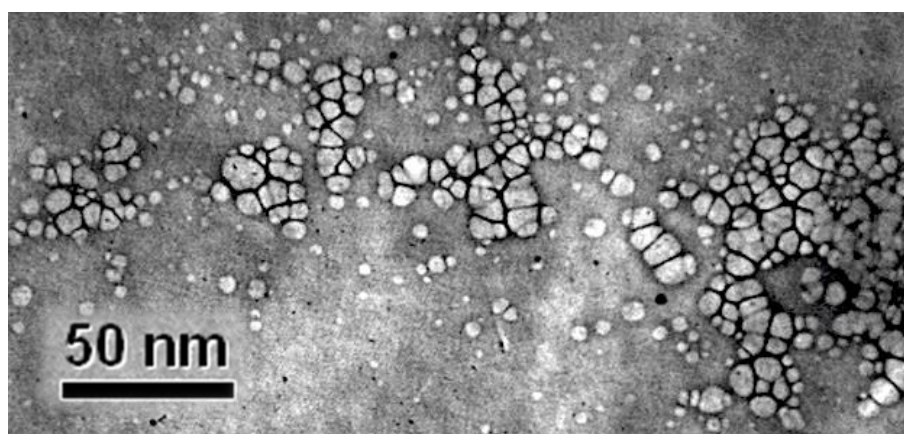


Imagen 9. Micrografías MET síntesis nanopartículas una fase

Las Nps obtenidas (Tabla 25 & Ilustración 15) tienen diámetros que oscilan entre 9 y 30nm, un diámetro promedio de 17 nm y con una moda en 12 y 15 nm.

¹ Saca Zúñiga Juan Carlos

² Segarra Urgiléz Andrea Estefanía

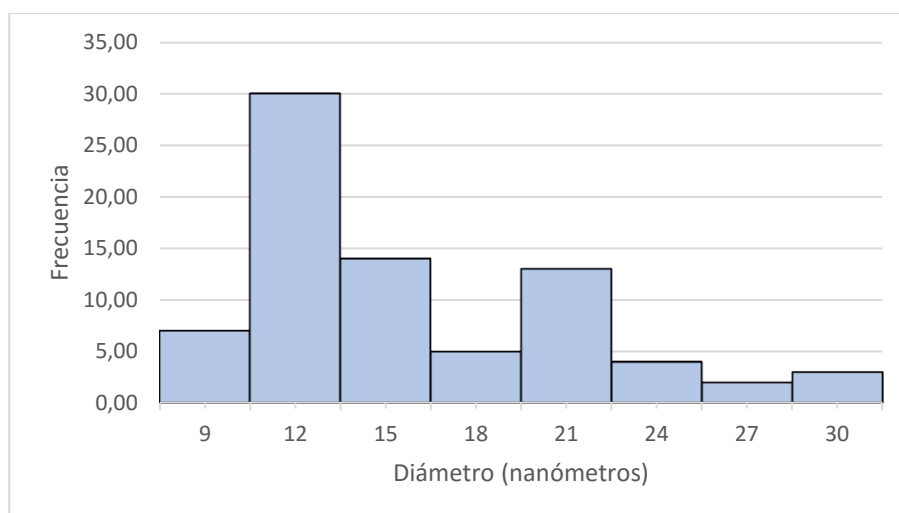


Ilustración 15. Dispersión de tamaño de nanopartículas sintetizadas en una sola fase

Los diámetros obtenidos tienen una polidispersidad de 35,90 % que es un valor relativamente bajo, mostrando uniformidad en lo referente a tamaño de partícula. Los resultados obtenidos, cumplen los objetivos de síntesis, en el que se propuso la obtención de nanopartículas y, como se observa en los resultados, si poseen diámetros en escala nanométrica.

Tabla 25. Resumen dispersión nanopartículas sintetizadas en una fase

PARÁMETRO	DESCRIPCIÓN
Desviación Estándar (Σ)	6 nm
Diámetro Promedio (x_c)	17 nm
Diámetro Promedio De Partícula ($x_c \pm \Sigma$)	17 ± 6 nm
Diámetro Moda	12 y 15 nm
% Polidispersidad ($100 \cdot \Sigma / x_c$)	35,90 %

Síntesis de nanopartículas en dos fases

Las nanopartículas sintetizadas en dos fases (Imagen 10) presentan morfología claramente definida, la forma hexagonal y triangular permite fácilmente diferenciar las nanopartículas de zinc, plata y hierro respectivamente (Muñoz et al., 2017). Su aglomeración es más controlada, puesto que se encuentran dispersas más uniformemente.

¹ Saca Zúñiga Juan Carlos

² Segarra Urgiléz Andrea Estefanía

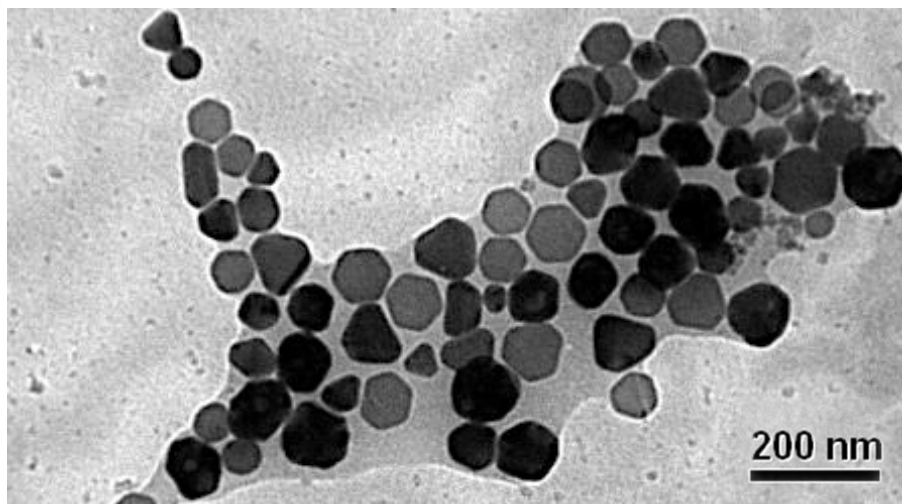


Imagen 10. Micrografías MET síntesis nanopartículas dos fases

Las Nps obtenidas (Tabla 26 & Ilustración 16) tienen diámetros que oscilan entre 40 y 110nm, con un diámetro promedio de 64 nm y una moda de 60 nm.

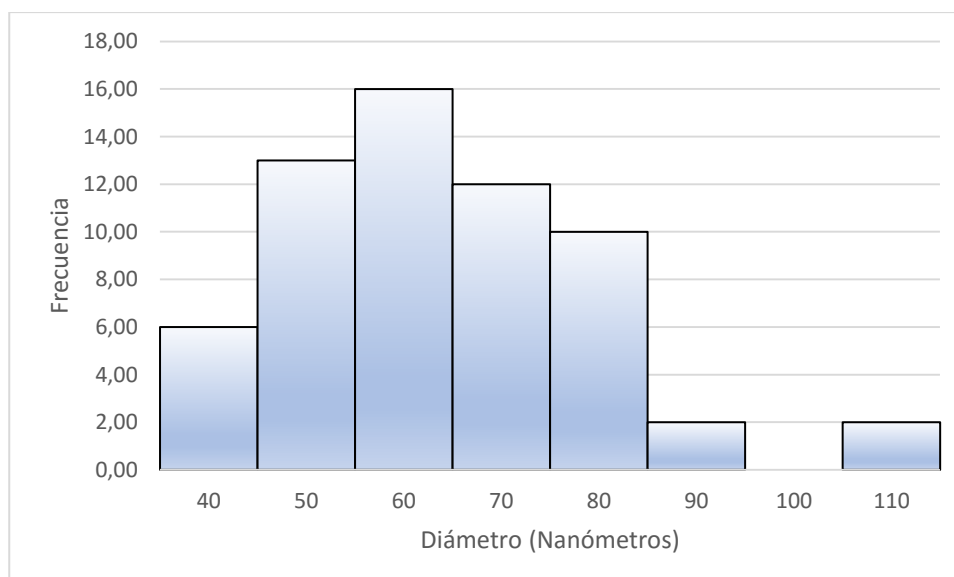


Ilustración 16. Dispersión de tamaño de nanopartículas sintetizadas en dos fases

En esta síntesis se presenta una polidispersidad menor con un valor de 24,28 % lo que nos indica mayor uniformidad en las partículas obtenidas.

Si comparamos con la síntesis en una sola fase, la morfología mejora considerablemente, sin embargo, el diámetro de partícula triplica, pero a pesar de eso, aún se mantiene en nanométricas, cumpliendo así el objetivo de investigación planteado.

Tabla 26. Resumen dispersión nanopartículas sintetizadas en dos fases

PARÁMETRO	DESCRIPCIÓN
Desviación estándar (σ)	16 nm
Diámetro promedio (\bar{x})	64 nm

¹ Saca Zúñiga Juan Carlos

² Segarra Urgiléz Andrea Estefanía

Diámetro promedio de partícula ($\bar{x} \pm \sigma$)	64 ± 16 nm
Diámetro moda	60 nm
% Polidispersidad ($100 \cdot \sigma / \bar{x}$)	25,00 %

Difracción de electrones de área selecta SAED

Se realizó ensayos de difracción en campo oscuro con la finalidad de conocer la cristalografía de las nanopartículas obtenidas. Para ello se usó nanopartículas sintetizadas en dos etapas debido a que poseen morfología más definida y se obtuvo los resultados mostrados a continuación en la Imagen 11.

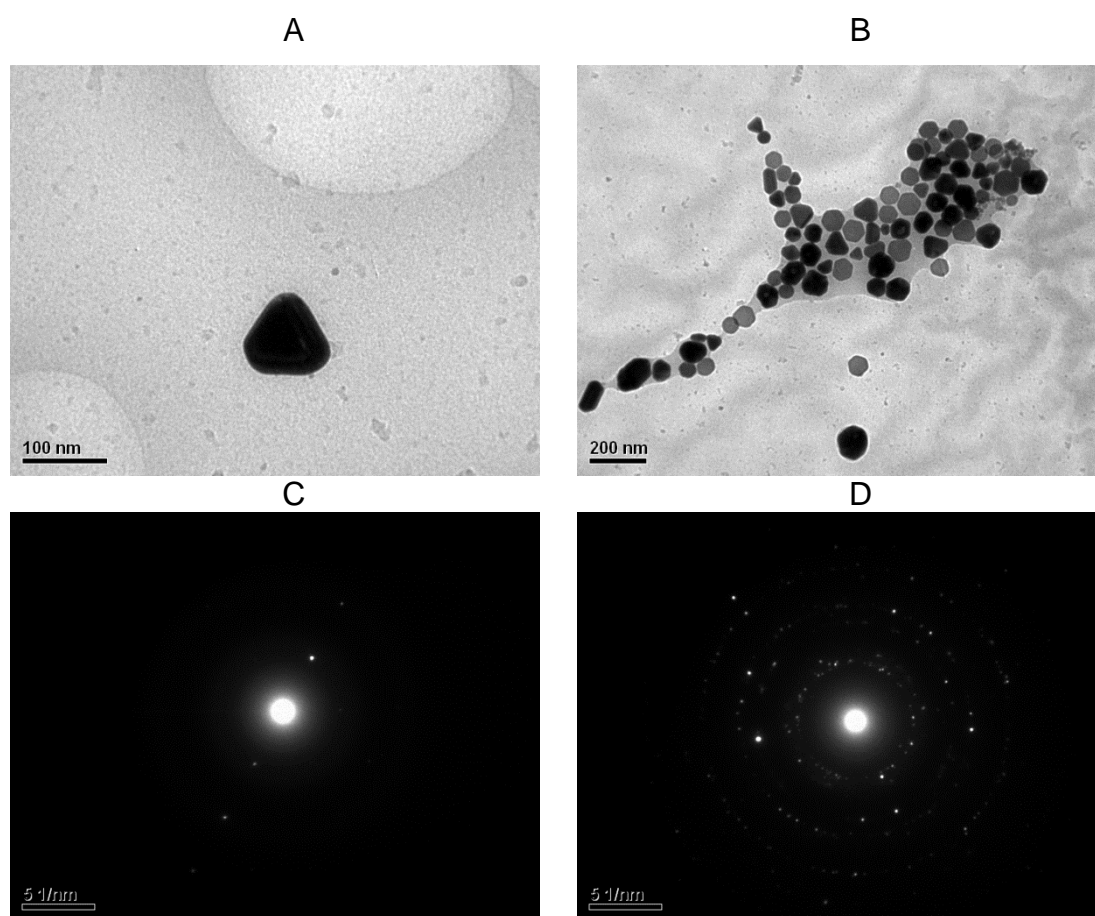


Imagen 11. SAED de nanopartículas Zn-Ag-Fe

Las figuras C y D muestran el patrón SAED de las figuras A y B respectivamente, en ambos casos se observa que las partículas son cristalina ya que se observan anillos concéntricos al punto más brillante y en el en caso de la Imagen 11 D al observarse varios anillos se puede decir que se tiene un sistema policristalino (Egerton, 2016b). Usando el software ImageJ se midió los diámetros de estos anillos obtener el espacio reciproco conocido como *d-spacing* que se exponen a continuación.

¹ Saca Zúñiga Juan Carlos

² Segarra Urgiléz Andrea Estefanía

Tabla 27. Espacio recíproco obtenido en los SAED de nanopartículas sintetizadas

FIGURA	2R (1/nm)	d-spacing (nm)
Figura C	8,9180	0,2243
	17,633	0,1134
Figura D	8,059	0,2482
	9,424	0,2122
	13,705	0,1459
	15,983	0,1251
	21,260	0,0941
	29,013	0,0689

Conociendo los componentes que se tiene en el cristal (Tabla 27) junto con los *d-space* se puede obtener los índices de Miller y resolver la estructura del cristal. A continuación, se indican algunas magnitudes similares a los obtenidos en bibliografía en los patrones SAED con sus respectivos índices de Miller.

Tabla 28. Índices de Miller obtenidos mediante medición de anillos presentes en los SAED de nanopartículas

Compuesto	d-spacing	h	k	l	Bibliografía de soporte
Nanopartículas de plata	0,235	1	1	1	(Theivasanthi & Alagar, 2011)
	0,203	2	0	0	
	0,144	2	2	0	
	0,123	3	1	1	
Nanopartículas de zinc.	0,2594	1	0	0	(Jamdagni, Rana, Khatri, & Nehra, 2018)
	0,2469	0	0	2	
	0,1911	1	0	2	
	0,1622	1	1	0	
	0,1476	1	0	3	
	0,1406	2	0	0	
	0,1378	1	1	2	
Nanopartículas de hierro.	0,1359	2	0	1	(Ge et al., 2007)
	0,4859	1	1	1	
	0,3001	2	2	0	
	0,2559	3	1	1	
	0,2074	4	0	0	
	0,1741	4	2	2	
	0,1629	5	1	1	
	0,1498	4	4	0	(Li, Wei, Gao, & Lei, 2005)

¹ Saca Zúñiga Juan Carlos

² Segarra Urgiléz Andrea Estefanía

Según los resultados del espacio recíproco (*d-spacing*) y, apoyados en bibliografía, se determina los arreglos cristalográficos mediante índices de Miller de los anillos principales obtenidos con la difracción de área selecta, lo cual, como se aprecia, presenta formas cristalinas de las tres nanopartículas utilizadas y esperadas en la síntesis, como se muestra en la Tabla 28.

Análisis de Microscopía electrónica de barrido MEB

Se realizó microscopía electrónica de barrido a las muestras sólidas de nanopartículas sintetizadas una y dos fases; y se obtuvo acercamientos de los productos con los cuales se pudo observar su morfología, tamaños y dispersión.

Nanofibras PVA-Quitano

Las fibras obtenidas por hilado (Imagen 12) de la mezcla polimérica sin agregados presentan una morfología definida, se observa fibras largas, perfectamente hiladas, entrecruzadas entre sí y con escasas aglomeraciones. Se puede inferir que las pequeñas aglomeraciones observadas que se deben a grumos presentes en la mezcla polimérica propios de la solución. El diámetro promedio de las nanofibras oscila entre 50 y 100 nm (1/20 y 1/10 μm).

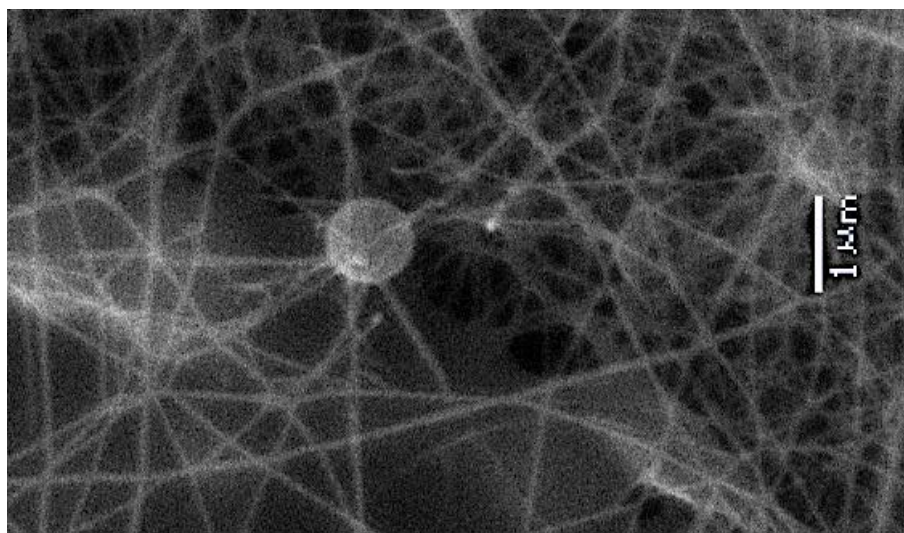


Imagen 12. Nanofibras PVA-Quitano

Nanofibras PVA-Quitano + Capsaicina

Las fibras obtenidas por hilado (Imagen 13) de la mezcla polimérica con capsaicina presentan una morfología definida similar que la fibra anterior, se observa fibras largas, perfectamente hiladas, entrecruzadas entre sí y con escasas aglomeraciones. Se puede inferir que las pequeñas aglomeraciones observadas que se deben a

¹ Saca Zúñiga Juan Carlos

² Segarra Urgiléz Andrea Estefanía

grumos presentes en la mezcla polimérica propios de la solución. El hilado se presenta más continuo, lo que puede atribuirse a la presencia de etanol en la mezcla debido a la presencia del extracto de capsaicina utilizado. A los extremos de la micrografía se observa una estructura similar a una membrana densa, esto se formó debido al tiempo de hilado, en el cual, parte de las fibras se fundieron al ambiente y formaron esta estructura homogénea, esto puede evitarse disminuyendo el tiempo de hilado y la permanencia de la fibra en el tambor. El diámetro promedio de las nanofibras oscila entre 80 y 300 nm (2/25 y 3/10 μm).

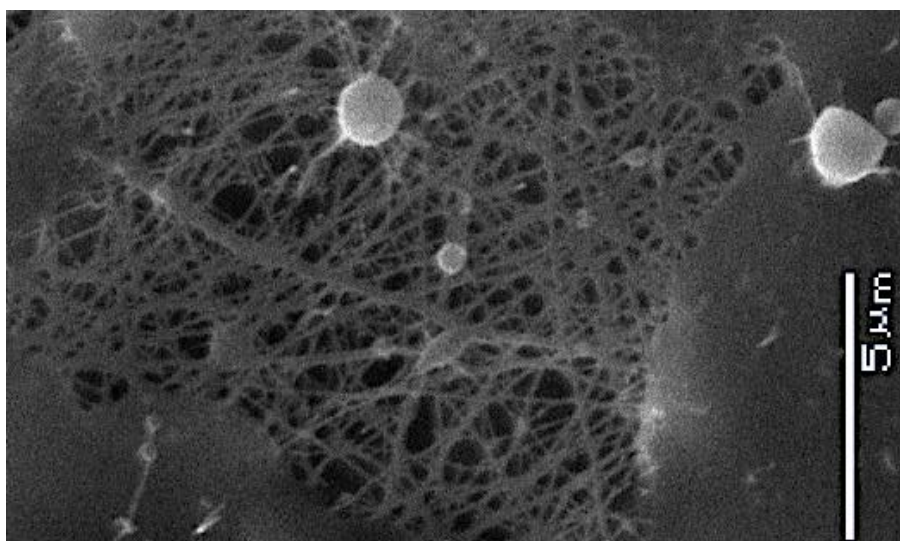


Imagen 13. Nanofibras PVA-Quitano + capsaicina

Nanofibras PVA-Quitano + Nanopartículas

Las fibras obtenidas (Imagen 14) de la mezcla polimérica con nanopartículas también presentan una morfología definida, mejor que en las fibras de capsaicina sola, se observa fibras largas, estilizadas y finas, entrecruzadas entre sí y con escasas aglomeraciones. Se observa fibras cortadas, puede deberse a la conductividad de la solución, que permitía que las fibras se corten en cada hilado. En este caso no se observan la fundición de las fibras, debido a que la solución estuvo menos tiempo expuesta al ambiente sobre el recolector. El diámetro promedio de las nanofibras oscila entre 70 80 y nm (7/10 y 4/5 μm).

¹ Saca Zúñiga Juan Carlos

² Segarra Urgiléz Andrea Estefanía

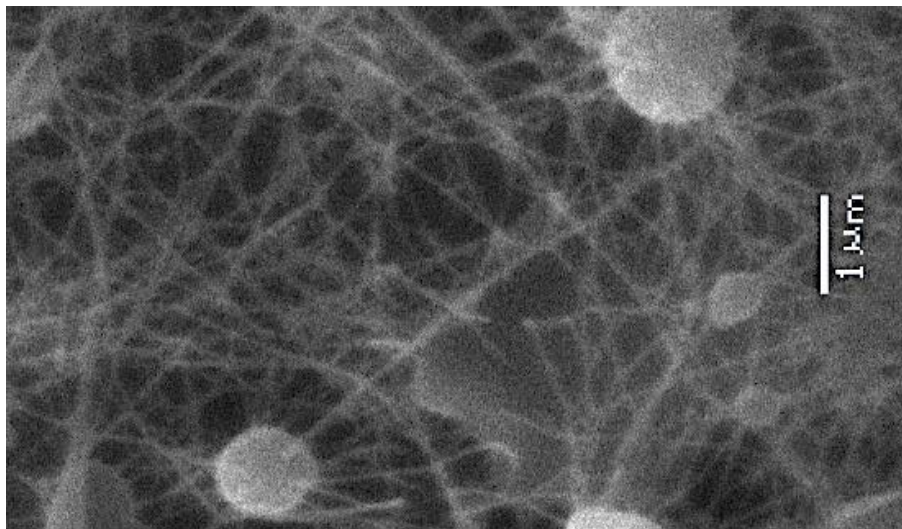


Imagen 14. Nanofibras PVA-Quitosano + nanopartículas

Nanofibras PVA-Quitosano + Nanopartículas + Capsaicina

Finalmente, las fibras (Imagen 15) de la mezcla polimérica con nanopartículas y capsaicina presentan forma uniforme, entrecruzamientos y con escasas aglomeraciones. Se da la formación de una membrana densa causado por la razón antes expuesta, sin embargo, el hilado mejora su trabajabilidad, el diámetro de las fibras disminuye considerablemente, su dispersión de diámetro es menor 30 y 70 nm (3/10 y 7/10 μm).

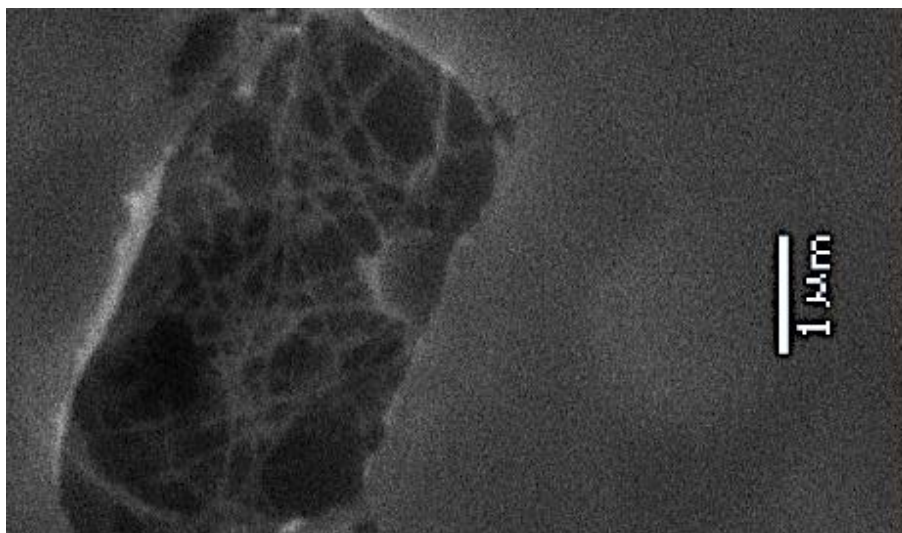


Imagen 15. Nanofibras PVA-Quitosano + capsaicina + nanopartículas

ESTUDIOS DE LIBERACIÓN

Para los ensayos de liberación, se fueron tomando alícuotas de 2 ml de los Erlenmeyer donde le realizó el estudio, y se midió absorbancia UV-Vis y se cuantificó según las curvas de calibración obtenidas.

¹ Saca Zúñiga Juan Carlos

² Segarra Urgiléz Andrea Estefanía

En la Ilustración 17, se muestra la tendencia de liberación de capsaicina en las diferentes fibras ensayadas en diferente pH en donde, se aprecia una tendencia similar de liberación en las fibras. La liberación en general se muestra creciente hasta el minuto 180, a partir de este instante, la liberación se vuelve invariable. Cada simulación de liberación muestra diferente comportamiento según el pH en el que se encuentra.

- Las fibras en pH ácido presentan una liberación inmediata, lo cual se aprecia en la tendencia de la curva al incrementar rápidamente la concentración de capsaicina en el medio durante los primeros 90 minutos.
- En pH neutro la liberación es progresiva y se torna más lenta, esto se aprecia en la curva, en donde, el tiempo de liberación incrementa hasta los 120 minutos antes de volverse constante.
- En pH básico la liberación se vuelve más lenta y controlada, esto se puede apreciar en el incremento del tiempo de liberación antes de la constancia de la curva en 180 min.

Según los resultados obtenidos en la tabla, se puede concluir que, la capsaicina tiene mejor liberación tiene en pH neutros e inferiores.

Liberación de Capsaicina

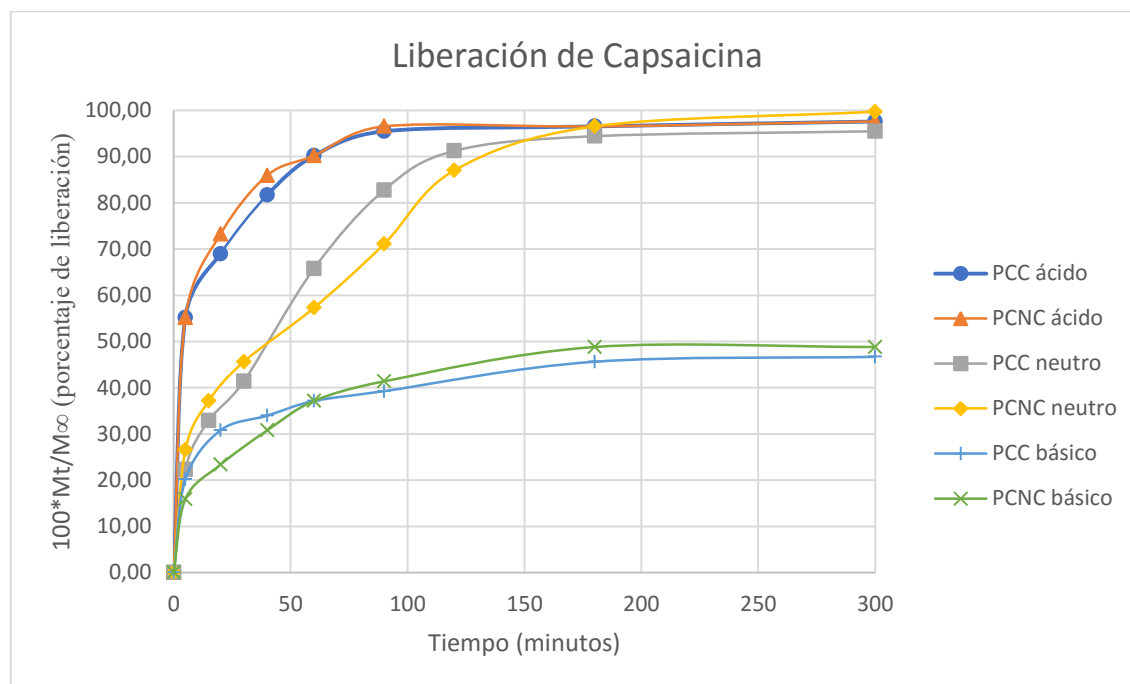


Ilustración 17. Liberación de capsaicina

¹ Saca Zúñiga Juan Carlos

² Segarra Urgiléz Andrea Estefanía

Liberación de nanopartículas

En la Ilustración 18, se muestra la liberación de nanopartículas, presentes en las fibras ensayadas. En general, se observa una liberación más lenta en virtud al tiempo, además, presentan diferente comportamiento según las variaciones de pH como se detalla a continuación:

- A pH ácido, la liberación de las Nps es casi inmediata, la curva se vuelve constante a las 24 horas.
- A pH neutro, la liberación se vuelve más prolongada y controlada, la liberación alcanza un punto constante a 33 horas de liberación.
- En pH básico no presentó liberación, lo que nos indica que, a rango superior a pH neutro, no existe liberación de nanopartículas.

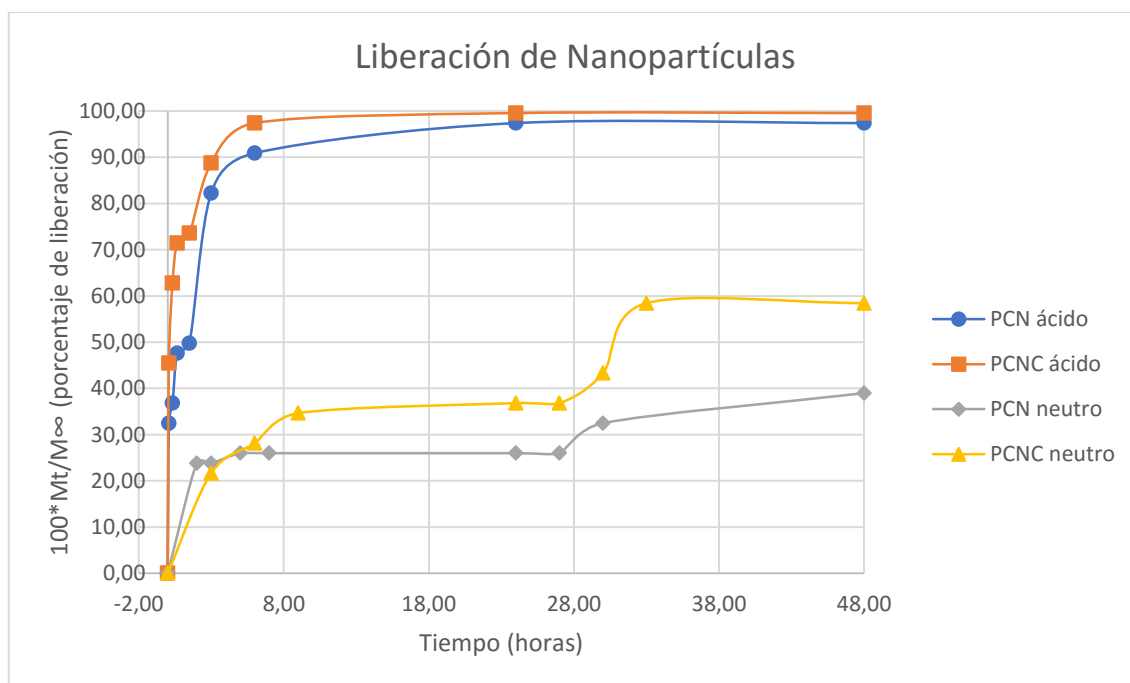


Ilustración 18. Liberación de nanopartículas

Se observa la liberación tanto de nanopartículas como de capsaicina en pH neutros e inferiores, las fibras presentaron hinchamiento y posterior desintegración conforme el tiempo avanzaba, lo que se atribuye a la solubilidad del Quitosano en pH ácidos, lo que pudo provocar su liberación rápida. Caso contrario, al observar la liberación en pH básicos, la liberación de capsaicina se vuelve más controlada, pero, en caso de las nanopartículas no existe, esto puede deberse a que las Nps pueden haberse adherido físicamente a la matriz polimérica más fuertemente que la capsaicina y, al no desintegrarse la fibra en pH básicos, las nanopartículas no se liberaron durante el tiempo de estudio.

¹ Saca Zúñiga Juan Carlos

² Segarra Urgiléz Andrea Estefanía

Ajuste de los modelos matemáticos

Para explicar los mecanismos de transporte que se dieron en el proceso de liberación se comparó con modelos matemáticos empíricos y se midió la correlación que tenía con los mismos. En vista de que son modelos empíricos no se puede obtener información adicional sobre un mecanismo de transporte complejo y pueden llegar a fallar si se quiere considerar procesos fisicoquímicos específicos (Fu & Kao, 2010).

Cinética de liberación de Capsaicina

En la Tabla 29 se muestran los coeficientes de correlación correspondientes a las liberaciones de **Capsaicina** ajustados a los modelos matemáticos.

Tabla 29. Coeficiente de correlación ajustado a la liberación de capsaicina

MEDIO	FIBRA	ORDEN CERO	HIGUCHI	KORSMEYER & PEPPAS		SCHOTT
		R^2	R^2	R^2	n	R^2
ÁCIDO	PCC	0,9139	0,9851	0,9913	0,1954	0,9950
	PCNC	0,8579	0,9601	0,9836	0,1964	0,9536
NEUTRO	PCC	0,8720	0,9601	0,9796	0,4406	0,9749
	PCNC	0,9570	0,9684	0,9836	0,3666	0,9536
BÁSICO	PCC	0,7845	0,9285	0,9790	0,2218	0,9935
	PCNC	0,8480	0,9684	0,9909	0,3262	0,9885

La cinética de liberación de capsaicina tiene una alta correlación tanto con el modelo de Schott como con el modelo de Korsmeyer & Peppas, ambos modelos nos dicen que el proceso de liberación es gobernado por el hinchamiento de la matriz polimérica pero, debido a que el valor de n es menor a 0,5 en todos los casos se dice que hay una difusión parcial simultánea similar al caso de materiales porosos llenos de agua (Fernández, Santos, & Estévez, 2009; Korsmeyer et al., 1983).

Cinética de liberación de Nanopartículas

En la Tabla 30 se muestran los coeficientes de correlación correspondientes a las liberaciones de **Nanopartículas** ajustados a los modelos matemáticos.

¹ Saca Zúñiga Juan Carlos

² Segarra Urgiléz Andrea Estefanía

Tabla 30. Coeficiente de correlación ajustado a la liberación de nanopartículas

MEDIO	FIBRA	ORDEN CERO	HIGUCHI	KORSMEYER & PEPPAS		SCHOTT
		R^2	R^2	R^2	n	R^2
ÁCIDO	PCN	0,5478	0,7644	0,9084	0,2258	0,9978
	PCNC	0,7876	0,9189	0,9728	0,1717	0,9949
NEUTRO	PCN	0,7618	0,6568	0,5807	0,1086	0,9288
	PCNC	0,8234	0,7034	0,8443	0,3196	0,8600

A pH básicos las nanopartículas presentaron nula liberación, esto puede deberse a la naturaleza de la matriz polimérica (PVA y Quitosano) el cual es insoluble en pH básicos (Keun Son et al., 2005) La liberación de nanopartículas tiene su más alta correlación con el modelo Schott independientemente del medio de liberación o del tipo de fibras. Es decir que la en las fibras se da principalmente un hinchamiento de la fibra que gobierna la liberación de las nanopartículas (Korsmeyer et al., 1983).

¹ Saca Zúñiga Juan Carlos

² Segarra Urgiléz Andrea Estefanía

CONCLUSIONES

- Se obtuvo el extracto de ají criollo (*Capsicum annum*) empleando dos métodos Soxhlet y maceración; en donde la extracción Soxhlet mostró mejores rendimientos con hasta 93,33 % de extracción del principio activo en la placenta del ají, la cual es la parte del fruto, en esta variedad, que contiene una mayor concentración de capsaicina, llegando a 973,94 ppm en el extracto.
- Se sintetizaron nanopartículas de Zn / Ag / Fe mediante un método solvotermal en una y dos etapas a 200 °C durante 3 horas con rendimientos promedio entre 40 y 45 mg de producto.
- Se caracterizaron las nanopartículas sintetizadas, cuyo diámetro promedio es de 17 nm y 63 nm, las partículas tienen formas hexagonales y triangulares no muy definidas en la primera síntesis, pero, en dos fases presentan morfología más uniforme. Las nanopartículas sintetizadas en una sola fase conservan la propiedad magnética inicial de las nanopartículas de Fe, lo que no sucede en la segunda ruta de síntesis.
- Se obtuvieron fibras mediante electrohilado de PVA / Quitosano encapsulando las nanopartículas y la capsaicina.
- Se caracterizaron las nanofibras obtenidas por MEB y se obtuvo que los diámetros de las fibras se encuentran dentro de la escala nanométrica (30 y 70 nm) y presentan morfología alargada, estilizada y con varios entrecruzamientos.
- Se realizaron estudios de liberación de los componentes activos presentes en las fibras a diferentes valores de pH, tanto la capsaicina y nanopartículas tiene liberación en pH neutro e inferiores y alcanzan su liberación total en el medio ácido y las fibras se disuelven en su totalidad por lo que podemos concluir que este medio es el mejor para su uso aplicado.
- Finalmente, se cumplió el objetivo propuesto, en el cual se planteó la síntesis compuesta de nanofibras mediante la incorporación del extracto de capsaicina y nanopartículas que poseen potencial actividad antifúngica, estructura que en conjunto promete uso eficaz como biofungicidas orgánicos.

¹ Saca Zúñiga Juan Carlos

² Segarra Urgiléz Andrea Estefanía



RECOMENDACIONES

Como recomendaciones para futuras investigaciones se prevé lo siguiente:

- El lavado y recuperación de nanopartículas se puede mejorar al realizar los lavados de las nanopartículas en etanol absoluto ya que facilita la precipitación de las mismas y acorta el tiempo de secado.
- Realizar el proceso de electrohilado consecutivamente para evitar la fundición de las fibras y analizar el producto ya que en este estudio se vio una diferencia notable en la superficie de éstas; al momento en que se realizó el proceso más de un día.
- Estudiar el proceso de electrohilado considerando otros parámetros como viscosidad, conductividad y tensión superficial; ya que cuando se trabaja con solventes volátiles en la preparación de las soluciones poliméricas estos parámetros tienden a ser bastante inestables lo que compromete la repetitividad del proceso y la calidad de las fibras.
- Realizar pruebas microbiológicas con las fibras considerando que éstas liberan los componentes activos en medio ácido y conforme se incrementa el pH aumenta el tiempo de liberación llegando a un punto en que la liberación es nula.

¹ Saca Zúñiga Juan Carlos

² Segarra Urgiléz Andrea Estefanía

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Adaszek, Ł., Gadomska, D., Mazurek, Ł., Łyp, P., Madany, J., & Winiarczyk, S. (2019). Properties of capsaicin and its utility in veterinary and human medicine. *Research in Veterinary Science*, 123, 14–19. <https://doi.org/10.1016/j.rvsc.2018.12.002>
- Ahmed, R., Tariq, M., Ali, I., Asghar, R., Noorunnisa Khanam, P., Augustine, R., & Hasan, A. (2018). Novel electrospun chitosan/polyvinyl alcohol/zinc oxide nanofibrous mats with antibacterial and antioxidant properties for diabetic wound healing. *International Journal of Biological Macromolecules*, 120, 385–393. <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2018.08.057>
- Akyuz, L., Kaya, M., Mujtaba, M., Ilk, S., Sargin, I., Salaberria, A. M., ... Islek, C. (2018). Supplementing capsaicin with chitosan-based films enhanced the anti-quorum sensing, antimicrobial, antioxidant, transparency, elasticity and hydrophobicity. *International Journal of Biological Macromolecules*, 115, 438–446. <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2018.04.040>
- Alharbi, H. F., Luqman, M., Khalil, K. A., Elnakady, Y. A., Abd-Elkader, O. H., Rady, A. M., ... Karim, M. R. (2018). Fabrication of core-shell structured nanofibers of poly (lactic acid) and poly (vinyl alcohol) by coaxial electrospinning for tissue engineering. *European Polymer Journal*, 98, 483–491. <https://doi.org/10.1016/j.eurpolymj.2017.11.052>
- Almasi, H., Jafarzadeh, P., & Mehryar, L. (2018). Fabrication of novel nanohybrids by impregnation of CuO nanoparticles into bacterial cellulose and chitosan nanofibers: Characterization, antimicrobial and release properties. *Carbohydrate Polymers*, 186, 273–281. <https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2018.01.067>
- Altieri, M., & Nicholls, C. (2007). *Biodiversidad y manejo de plagas en agroecosistemas* □ "Miguel A. Altieri, Clara Inés Nicholls" □ "Google Libros. Retrieved from <https://books.google.com.ec/books?id=nRjLGJhQ7ywC&pg=PA10&dq=plagas+y+l+a+agricultura&hl=es-419&sa=X&ved=0ahUKEwjsie2MyLziAhUxrVvKkHSH5BuEQ6AEIKzAB#v=onepage&q=plagas%20y%20la%20agricultura&f=false>
- Alvear, D., Galeas, S., Guerrero, V. H., Debut, A., Alvear, D., Galeas, S., ... Debut, A. (2017). Síntesis y Caracterización de Nanopartículas de Magnetita. *Revista Politécnica*, 39(2), 61–66.
- Amruthraj, N. J., Preetam Raj, J. P., & Lebel, A. (2015). Capsaicin-capped silver

¹ Saca Zúñiga Juan Carlos

² Segarra Urgiléz Andrea Estefanía

- nanoparticles: Its kinetics, characterization and biocompatibility assay. *Applied Nanoscience*, 5(4), 403–409. <https://doi.org/10.1007/s13204-014-0330-5>
- Arifin, D. Y., Lee, L. Y., & Wang, C.-H. (2006). Mathematical modeling and simulation of drug release from microspheres: Implications to drug delivery systems. *Advanced Drug Delivery Reviews*, 58(12), 1274–1325. <https://doi.org/10.1016/j.addr.2006.09.007>
 - Ashik, U. P. M., Kudo, S., & Hayashi, J. (2018). Chapter 2 “An Overview of Metal Oxide Nanostructures. In S. Mohan Bhagyaraj, O. S. Oluwafemi, N. Kalarikkal, & S. Thomas (Eds.), *Synthesis of Inorganic Nanomaterials* (pp. 19–57). <https://doi.org/10.1016/B978-0-08-101975-7.00002-6>
 - Asmatulu, R., & Khan, W. S. (2019). Chapter 5 “Electrospun nanofibers for agriculture and food industries. In R. Asmatulu & W. S. Khan (Eds.), *Synthesis and Applications of Electrospun Nanofibers* (pp. 89–109). <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-813914-1.00005-5>
 - Baldeón-Apaestegui, S., & Hernández-Gorriti, W. R. (2017). Identificación de la capsaicina y la deshidrocapsaicina en el extracto de oleorresina obtenido a partir del ají panca (*Capsicum chinense*). *Ingeniería Industrial*, 0(035), 223–237–237.
 - Bose, S., & Sanyal, D. (2018). Synthesis and Characterization of ZnO Microfiber By Electrospinning Technique. *Materials Today: Proceedings*, 5(3), 9860–9865. <https://doi.org/10.1016/j.matpr.2017.10.178>
 - Bruschi, M. L. (Ed.). (2015). 5 “Mathematical models of drug release. In *Strategies to Modify the Drug Release from Pharmaceutical Systems* (pp. 63–86). <https://doi.org/10.1016/B978-0-08-100092-2.00005-9>
 - Carpio, L. (2018). *El uso de la tecnología en la agricultura | Pro Sciences*. Retrieved from <http://journalprosciences.com/index.php/ps/article/view/70>
 - Cheah, W. Y., Show, P.-L., Ng, I.-S., Lin, G.-Y., Chiu, C.-Y., & Chang, Y.-K. (2019). Antibacterial activity of quaternized chitosan modified nanofiber membrane. *International Journal of Biological Macromolecules*, 126, 569–577. <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2018.12.193>
 - Chinn, M. S., Sharma-Shivappa, R. R., & Cotter, J. L. (2011). Solvent extraction and quantification of capsaicinoids from *Capsicum chinense*. *Food and Bioprocess Processing*, 89(4), 340–345. <https://doi.org/10.1016/j.fbp.2010.08.003>
 - Chipantiza, H. (2017). *Extracción de capsaicina y evaluación de su actividad antimicrobiana frente a: Aspergillus niger, Bacillus cereus, Clostridium perfringens, Escherichia coli, Pseudomonas aeruginosa*. Retrieved from <http://repositorio.uta.edu.ec/jspui/handle/123456789/25298>

¹ Saca Zúñiga Juan Carlos² Segarra Urgiléz Andrea Estefanía

- Chuichulcherm, S., Prommakort, S., Srinophakun, P., & Thanapimmetha, A. (2013). Optimization of capsaicin purification from *Capsicum frutescens* Linn. With column chromatography using Taguchi design. *Industrial Crops and Products*, 44, 473–479. <https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2012.10.007>
- Cruzat Contreras, C., Peña, O., Meléndrez, M. F., Díaz-Visurraga, J., & Cárdenas, G. (2011). Synthesis, characterization and properties of magnetic colloids supported on chitosan. *Colloid and Polymer Science*, 289(1), 21–31. <https://doi.org/10.1007/s00396-010-2302-y>
- Dadi, R., Rabah, A., Traore, M., Mielcarek, C., & Kanaev, A. (2019). Antibacterial activity of ZnO and CuO nanoparticles against gram positive and gram negative strains. *Materials Science and Engineering: C*, 109968. <https://doi.org/10.1016/j.msec.2019.109968>
- Davis, C. B., Markey, C. E., Busch, M. A., & Busch, K. W. (2007). Determination of Capsaicinoids in Habanero Peppers by Chemometric Analysis of UV Spectral Data. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 55(15), 5925–5933. <https://doi.org/10.1021/jf070413k>
- Dong, X., Li, X., Ding, L., Cui, F., Tang, Z., & Liu, Z. (2014). Stage extraction of capsaicinoids and red pigments from fresh red pepper (*Capsicum*) fruits with ethanol as solvent. *LWT - Food Science and Technology*, 59(1), 396–402. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2014.04.051>
- Dorneanu, P., Homocianu (born Lupu, M., Cojocaru, C., Samoila, P., Airinei, A., & Sucheana, M. (2019). Preparation of La doped ZnO ceramic nanostructures by electrospinning – calcination method: Effect of La³⁺ doping on optical and photocatalytic properties. *Applied Surface Science*, 476. <https://doi.org/10.1016/j.apsusc.2019.01.077>
- Egerton, R. F. (2016a). Electron Optics. In R. F. Egerton (Ed.), *Physical Principles of Electron Microscopy: An Introduction to TEM, SEM, and AEM* (pp. 27–54). https://doi.org/10.1007/978-3-319-39877-8_2
- Egerton, R. F. (2016b). TEM Specimens and Images. In R. F. Egerton (Ed.), *Physical Principles of Electron Microscopy: An Introduction to TEM, SEM, and AEM* (pp. 89–120). https://doi.org/10.1007/978-3-319-39877-8_4
- Elgorban, A. M., El-Samawaty, A. E.-R. M., Yassin, M. A., Sayed, S. R., Adil, S. F., Elhindi, K. M., ... Khan, M. (2016). Antifungal silver nanoparticles: Synthesis, characterization and biological evaluation. *Biotechnology & Biotechnological Equipment*, 30(1), 56–62. <https://doi.org/10.1080/13102818.2015.1106339>
- Esmaeili, A., & Beni, A. A. (2014). A novel fixed-bed reactor design incorporating

¹ Saca Zúñiga Juan Carlos² Segarra Urgiléz Andrea Estefanía

- an electrospun PVA/chitosan nanofiber membrane. *Journal of Hazardous Materials*, 280, 788–796. <https://doi.org/10.1016/j.jhazmat.2014.08.048>
- Ewaldz, E., Patel, R., Banerjee, M., & Brettmann, B. K. (2018). Material selection in electrospinning microparticles. *Polymer*, 153, 529–537. <https://doi.org/10.1016/j.polymer.2018.08.015>
 - Fernández, J. A., Santos, R. G., & Estévez, G. F. (2009). Cinética de liberación de cefalexina desde un biomaterial compuesto por HAP-200/POVIAC/CaCO₃. *Anales de La Real Academia Nacional de Farmacia*, 75(3). Retrieved from <https://www.analesranf.com/index.php/aranf/article/view/978>
 - Fu, Y., & Kao, W. J. (2010). Drug release kinetics and transport mechanisms of non-degradable and degradable polymeric delivery systems. *Expert Opinion on Drug Delivery*, 7(4), 429–444. <https://doi.org/10.1517/17425241003602259>
 - Gaaz, T. S., Sulong, A. B., Akhtar, M. N., Kadhun, A. A. H., Mohamad, A. B., & Al-Amiery, A. A. (2015). Properties and Applications of Polyvinyl Alcohol, Halloysite Nanotubes and Their Nanocomposites. *Molecules*, 20(12), 22833–22847. <https://doi.org/10.3390/molecules201219884>
 - Ge, M. Y., Wu, H. P., Niu, L., Liu, J. F., Chen, S. Y., Shen, P. Y., ... Jiang, J. Z. (2007). Nanostructured ZnO: From monodisperse nanoparticles to nanorods. *Journal of Crystal Growth*, 305(1), 162–166. <https://doi.org/10.1016/j.jcrysgro.2007.03.016>
 - Ghafari, E., Feng, Y., Liu, Y., Ferguson, I., & Lu, N. (2017). Investigating process-structure relations of ZnO nanofiber via electrospinning method. *Composites Part B: Engineering*, 116, 40–45. <https://doi.org/10.1016/j.compositesb.2017.02.026>
 - Ghandoor, H. E., Zidan, H. M., Khalil, M. M. H., & Ismail, M. I. M. (2012). Synthesis and Some Physical Properties of Magnetite (Fe₃O₄) Nanoparticles. *Int. J. Electrochem. Sci.*, 7, 12.
 - Ghodake, V. N., Naik, S. V., Bhukhanwala, K. N., Kande, K. V., Bhor, N. J., & Patravale, V. B. (2018). Chapter 14 “Nanoengineered Systems for Biopesticides. In C. Mustansar Hussain (Ed.), *Handbook of Nanomaterials for Industrial Applications* (pp. 243–259). <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-813351-4.00015-8>
 - Giuffrida, D., Dugo, P., Torre, G., Bignardi, C., Cavazza, A., Corradini, C., & Dugo, G. (2013). Characterization of 12 Capsicum varieties by evaluation of their carotenoid profile and pungency determination. *Food Chemistry*, 140(4), 794–802. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2012.09.060>
 - González, M., Moreno, S., Salcedo, S., & Pérez, E. (2015). Evaluación in vitro de la actividad antifúngica de extractos de agave (*Agave scabra*, Salm Dyck) sobre

¹ Saca Zúñiga Juan Carlos² Segarra Urgiléz Andrea Estefanía

hongos postcosecha. *Phyton*, 84, 427.

- Gorla, G. (2018). *Agroquímicos: Las consecuencias del uso sin control*. Retrieved from <http://repositorio.umaza.edu.ar/handle/00261/755>
- Haider, A., Haider, S., & Kang, I.-K. (2018). A comprehensive review summarizing the effect of electrospinning parameters and potential applications of nanofibers in biomedical and biotechnology. *Arabian Journal of Chemistry*, 11(8), 1165–1188. <https://doi.org/10.1016/j.arabjc.2015.11.015>
- Hayles, J., Johnson, L., Worthley, C., & Losic, D. (2017). 5 - Nanopesticides: A review of current research and perspectives. In A. M. Grumezescu (Ed.), *New Pesticides and Soil Sensors* (pp. 193–225). <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-804299-1.00006-0>
- Hernández-Alpízar, L., & Coy-Herrera, R. (2015). Evaluación de técnicas de cuantificación de nitratos en agua potable para análisis en línea. *Revista Tecnología en Marcha*, 28(4), 86. <https://doi.org/10.18845/tm.v28i4.2446>
- Higuchi, T. (1963). Mechanism of sustained-action medication. Theoretical analysis of rate of release of solid drugs dispersed in solid matrices. *Journal of Pharmaceutical Sciences*, 52(12), 1145–1149. <https://doi.org/10.1002/jps.2600521210>
- Hoyos, O., Martín, F., Solarte, C., & Orozco, M. (2007). Extracción y cuantificación de capsaicina a partir del fruto del ají (*Capsicum* spp). *Scientia et Técnica*, XIII, 33–36.
- Itoh, H., Li, Y., Chan, K. H. K., & Kotaki, M. (2016). Morphology and mechanical properties of PVA nanofibers spun by free surface electrospinning. *Polymer Bulletin*, 73(10), 2761–2777. <https://doi.org/10.1007/s00289-016-1620-8>
- Jamdagni, P., Rana, J. S., Khatri, P., & Nehra, K. (2018). Comparative account of antifungal activity of green and chemically synthesized Zinc Oxide nanoparticles in combination with agricultural fungicides. *International Journal of Nano Dimension; Tonekabon*, 9(2), 198–208.
- Jampílek, J., & Kráľová, K. (2017). 3 - Nanopesticides: Preparation, targeting, and controlled release. In A. M. Grumezescu (Ed.), *New Pesticides and Soil Sensors* (pp. 81–127). <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-804299-1.00004-7>
- Joshi, R. (2018). Facile photochemical synthesis of ZnO nanoparticles in aqueous solution without capping agents. *Materialia*, 2, 104–110. <https://doi.org/10.1016/j.mtla.2018.07.001>
- Kajdič, S., Planinšek, O., Gašperlin, M., & Kocbek, P. (2019). Electrospun nanofibers for customized drug-delivery systems. *Journal of Drug Delivery Science*

¹ Saca Zúñiga Juan Carlos

² Segarra Urgiléz Andrea Estefanía

and Technology, 51, 672–681. <https://doi.org/10.1016/j.jddst.2019.03.038>

- Kanatt, S. R., Rao, M. S., Chawla, S. P., & Sharma, A. (2012). Active chitosan–polyvinyl alcohol films with natural extracts. *Food Hydrocolloids*, 29(2), 290–297. <https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2012.03.005>
- Karunakaran, C., & Vinayagamoorthy, P. (2017). Superparamagnetic core/shell Fe₂O₃/ZnO nanosheets as photocatalyst cum bactericide. *Catalysis Today*, 284, 114–120. <https://doi.org/10.1016/j.cattod.2016.11.022>
- Keun Son, W., Ho Youk, J., Seung Lee, T., & Park, W. H. (2005). Effect of pH on electrospinning of poly(vinyl alcohol). *Materials Letters*, 59(12), 1571–1575. <https://doi.org/10.1016/j.matlet.2005.01.025>
- Khan, M., & Rizvi, T. (2014). *Nanotechnology: Scope and Application in Plant Disease Management*. <https://doi.org/DOL:10.3923/ppj.2014.214.231>
- Khodashenas, B., & Ghorbani, H. R. (2015). Synthesis of silver nanoparticles with different shapes. *Arabian Journal of Chemistry*. <https://doi.org/10.1016/j.arabjc.2014.12.014>
- Konur, O. (2017). 19“Scientometric overview in nanopesticides. In A. M. Grumezescu (Ed.), *New Pesticides and Soil Sensors* (pp. 719–744). <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-804299-1.00020-5>
- Korsmeyer, R. W., Gurny, R., Doelker, E., Buri, P., & Peppas, N. A. (1983). Mechanisms of solute release from porous hydrophilic polymers. *International Journal of Pharmaceutics*, 15(1), 25–35. [https://doi.org/10.1016/0378-5173\(83\)90064-9](https://doi.org/10.1016/0378-5173(83)90064-9)
- Kumar, D., Bar, H., Sarkar, P., Prasad, G., Prasad, S., & Misra, A. (2009). Synthesis and UV-vis spectroscopy study of silver nanoparticles in aqueous SDS solution. *Journal of Molecular Liquids* 145 (1), 33–37. <https://doi.org/10.1016/j.molliq.2008.11.014>
- Kurniasih, M., Purwati, Cahyati, T., & Dewi, R. S. (2018). Carboxymethyl chitosan as an antifungal agent on gauze. *International Journal of Biological Macromolecules*, 119, 166–171. <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2018.07.038>
- León-Fernández, V., Rieumont-Briones, J., Bordallo-López, E., & López-Hernández, D. (2014). *Mecanismo de liberación de diclofenaco a partir de un copolímero entérico base celulosa*. 45, 7.
- Li, Z., Wei, L., Gao, M. Y., & Lei, H. (2005). One-Pot Reaction to Synthesize Biocompatible Magnetite Nanoparticles. *Advanced Materials*, 17(8), 1001–1005. <https://doi.org/10.1002/adma.200401545>
- Liu, H., Fan, K., Liu, Y., Huang, B., & Li, T. (2018). *Hierarchical ZnO*

¹ Saca Zúñiga Juan Carlos

² Segarra Urgiléz Andrea Estefanía

Microstructures: Solvothermal Synthesis, Recrystallization Process and Photoluminescence Property. <https://doi.org/10.1166/jnn.2018.15552>

- Malaikozhundan, B., Vaseeharan, B., Vijayakumar, S., & Thangaraj, M. P. (2017). *Bacillus thuringiensis* coated zinc oxide nanoparticle and its biopesticidal effects on the pulse beetle, *Callosobruchus maculatus*. *Journal of Photochemistry and Photobiology B: Biology*, 174, 306–314. <https://doi.org/10.1016/j.jphotobiol.2017.08.014>
- Mármol, Z., Páez, G., Rincón, M., Araujo, K., Aiello, C., & Chandler, C. (2011). *Quitina y Quitosano polímeros amigables. Una revisión de sus aplicaciones*. 7.
- Mazrouaa, A. M., Mohamed, M. G., & Fekry, M. (2019). Physical and magnetic properties of iron oxide nanoparticles with a different molar ratio of ferrous and ferric. *Egyptian Journal of Petroleum*, 28(2), 165–171. <https://doi.org/10.1016/j.ejpe.2019.02.002>
- Melgar-Lalanne, G., Hernández-Álvarez, A. J., Jiménez-Fernández, M., & Azuara, E. (2017). Oleoresins from *Capsicum* spp.: Extraction Methods and Bioactivity. *Food and Bioprocess Technology*, 10(1), 51–76. <https://doi.org/10.1007/s11947-016-1793-z>
- Meng, H., Zhang, Z., Zhao, F., Qiu, T., & Yang, J. (2013). Orthogonal optimization design for preparation of Fe₃O₄ nanoparticles via chemical coprecipitation. *Applied Surface Science*, 280, 679–685. <https://doi.org/10.1016/j.apsusc.2013.05.041>
- Mohan Bhagyaraj, S., & Oluwafemi, O. S. (2018). Chapter 1 - Nanotechnology: The Science of the Invisible. In S. Mohan Bhagyaraj, O. S. Oluwafemi, N. Kalarikkal, & S. Thomas (Eds.), *Synthesis of Inorganic Nanomaterials* (pp. 1–18). <https://doi.org/10.1016/B978-0-08-101975-7.00001-4>
- Montoya, J. U. (2016). Sistema Inteligente para el Control de Plagas en Cultivos. *Revista Electrónica de la Facultad de Ingeniería*, 3(2), 28-34–34.
- Moreno-Limón, S., Salcedo-Martínez, S. M., Cárdenas-Ávila, M. L., Hernández-Piñero, J. L., & Núñez-González, M. A. (2012). Antifungal effects of capsaicin and chile piquin extracts (*Capsicum annum* L. Var. *Aviculare*) in vitro on *Aspergillus flavus* growth. *Polibotánica*, (34), 191–204.
- Muñoz, L., Sierra, A., Flores, G., Milošević, O., & Rabanal, M. E. (2017). Solvothermal synthesis of Ag/ZnO micro/nanostructures with different precursors for advanced photocatalytic applications. *Advanced Powder Technology*, 28(1), 83–92. <https://doi.org/10.1016/j.apt.2016.09.033>
- Nava, E., García, C., Camacho, J. R., & Vázquez, E. L. (2012). BIOPLAGUICIDAS: UNA OPCIÓN PARA EL CONTROL BIOLÓGICO DE PLAGAS. *Ra Ximhai*, 8(3b).

¹ Saca Zúñiga Juan Carlos

² Segarra Urgiléz Andrea Estefanía

Retrieved from <http://www.redalyc.org/resumen.oa?id=46125177003>

- Nava-Pérez, E., García-Gutiérrez, C., Camacho-Báez, J. R., & Vázquez-Montoya, E. L. (2012). Bioplaguicidas: Una opción para el control biológico de plagas. *Ra Ximhai*, 17–30. <https://doi.org/10.35197/rx.08.03.e2.2012.03.en>
- Nawaz, M., Sliman, Y., Ercan, I., Lima-Tenório, M. K., Tenório-Neto, E. T., Kaewsaneha, C., & Elaissari, A. (2019). “Magnetic and pH-responsive magnetic nanocarriers. In A. S. H. Makhlof & N. Y. Abu-Thabit (Eds.), *Stimuli Responsive Polymeric Nanocarriers for Drug Delivery Applications* (pp. 37–85). <https://doi.org/10.1016/B978-0-08-101995-5.00002-7>
- Pascariu, P., & Homocianu, M. (2019). ZnO-based ceramic nanofibers: Preparation, properties and applications. *Ceramics International*, 45(9), 11158–11173. <https://doi.org/10.1016/j.ceramint.2019.03.113>
- Patil, P. P., Bohara, R. A., Meshram, J. V., Nanaware, S. G., & Pawar, S. H. (2019). Hybrid chitosan-ZnO nanoparticles coated with a sonochemical technique on silk fibroin-PVA composite film: A synergistic antibacterial activity. *International Journal of Biological Macromolecules*, 122, 1305–1312. <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2018.09.090>
- Peresin, M. S., Habibi, Y., Zoppe, J. O., Pawlak, J. J., & Rojas, O. J. (2010). Nanofiber Composites of Polyvinyl Alcohol and Cellulose Nanocrystals: Manufacture and Characterization. *Biomacromolecules*, 11(3), 674–681. <https://doi.org/10.1021/bm901254n>
- Pillay, V., Dott, C., Choonara, Y. E., Tyagi, C., Tomar, L., Kumar, P., ... Ndesendo, V. M. K. (2013). A Review of the Effect of Processing Variables on the Fabrication of Electrospun Nanofibers for Drug Delivery Applications. *Journal of Nanomaterials*. <https://doi.org/DOL: 10.1155/2013/789289>
- Pozo, P., & Mejia, F. (2014). Aislamiento y caracterización fisicoquímica de la capsaicina de tres variedades de ají. *infoANALÍTICA*, 2(1). Retrieved from <http://www.infoanalitica-puce.edu.ec/index.php/infoanalitica/article/view/26>
- Rane, A. V., Kanny, K., Abitha, V. K., & Thomas, S. (2018). Chapter 5 “Methods for Synthesis of Nanoparticles and Fabrication of Nanocomposites. In S. Mohan Bhagyaraj, O. S. Oluwafemi, N. Kalarikkal, & S. Thomas (Eds.), *Synthesis of Inorganic Nanomaterials* (pp. 121–139). <https://doi.org/10.1016/B978-0-08-101975-7.00005-1>
- Rodríguez, H., Morales, G., & Grande, D. (2019). Comprehensive review on electrospinning techniques as versatile approaches toward antimicrobial biopolymeric composite fibers. *Materials Science and Engineering: C*, 101, 306–

¹ Saca Zúñiga Juan Carlos

² Segarra Urgiléz Andrea Estefanía



322. <https://doi.org/10.1016/j.msec.2019.03.099>

- Saleh, R., & Djaja, N. F. (2014). Transition-metal-doped ZnO nanoparticles: Synthesis, characterization and photocatalytic activity under UV light. *Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy*, 130, 581–590. <https://doi.org/10.1016/j.saa.2014.03.089>
- Salgado, M. I. C. (2018). *Insecticidas alternativos para el control de plagas en granos almacenados*. Retrieved from <http://riaa.uaem.mx/xmlui/handle/20.500.12055/361>
- Sangeetha, G., Rajeshwari, S. & Venckatesh, R. (2011) Green synthesis of zinc oxide nanoparticles by aloe barbadensis miller leaf extract: Structure and optical properties. *Materials Research Bulletin* 46(12) 2560-2566. doi:10.1016/j.materresbull.2011.07.046)
- Šarić, A., Despotović, I., & Štefanić, G. (2019). Solvothermal synthesis of zinc oxide nanoparticles: A combined experimental and theoretical study. *Journal of Molecular Structure*, 1178, 251–260. <https://doi.org/10.1016/j.molstruc.2018.10.025>
- Schott, H. (1992). Swelling kinetics of polymers. *Journal of Macromolecular Science, Part B*, 31(1), 1–9. <https://doi.org/10.1080/00222349208215453>
- Sikder, M., Lead, J. R., Chandler, G. T., & Baalousha, M. (2018). A rapid approach for measuring silver nanoparticle concentration and dissolution in seawater by UV–Vis. *Science of The Total Environment*, 618, 597–607. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2017.04.055>
- Theivasanthi, T., & Alagar, M. (2011). Electrolytic Synthesis and Characterizations of Silver Nanopowder. *ArXiv:1111.0260 [Physics]*. Retrieved from <http://arxiv.org/abs/1111.0260>
- V, C. V., & Arias, J. I. (2012). Potenciales aplicaciones de películas de quitosano en alimentos de origen animal: Una revisión. *Avances en Ciencias Veterinarias*, 27(1). <https://doi.org/10.5354/acv.v27i1.21997>
- Vanegas, M. E., Vázquez, V., Moscoso, D., Cruzat, C., Cuenca, U. de, Cuenca, D. de I. de la U. de, & DIUC. (2014). *Síntesis y caracterización de nanopartículas magnéticas del tipo Fe₃O₄/TiO₂, efecto del pH en la dispersión y estabilización en soluciones acuosas*. Retrieved from <http://dspace.ucuenca.edu.ec/handle/123456789/5584>
- Vargas, G., Alvarez, V. de P., Guigón, C., Cano, P., & García, M. (2019). Impacto ambiental por uso de plaguicidas en tres áreas de producción de melón en la Comarca Lagunera, México. *CienciaUAT*, 13(2), 113–127. <https://doi.org/10.29059/cienciauat.v13i2.1141>

¹ Saca Zúñiga Juan Carlos

² Segarra Urgiléz Andrea Estefanía

- Vargas, I., Fraijo, M., Vallejo, S., Corrales, C., Martínez, M. Á., Vargas-Arispuro, I., ... Martínez-Téllez, M. Á. (2017). Buscando agentes antifúngicos naturales: Ensayo sensible para detectar inhibidores de endo-1,3- β -glucanasa en extractos crudos de plantas. *Revista Mexicana de Fitopatología*, 35(1), 130–138. <https://doi.org/10.18781/r.mex.fit.1606-5>
- Wahid, F., Yin, J.-J., Xue, D.-D., Xue, H., Lu, Y.-S., Zhong, C., & Chu, L.-Q. (2016). Synthesis and characterization of antibacterial carboxymethyl Chitosan/ZnO nanocomposite hydrogels. *International Journal of Biological Macromolecules*, 88, 273–279. <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2016.03.044>
- Xiang, Y., Zhang, G., Chi, Y., Cai, D., & Wu, Z. (2017). Fabrication of a controllable nanopesticide system with magnetic collectability. *Chemical Engineering Journal*, 328, 320–330. <https://doi.org/10.1016/j.cej.2017.07.046>
- Yang, X.-H., Deng, L.-Z., Mujumdar, A. S., Xiao, H.-W., Zhang, Q., & Kan, Z. (2018). Evolution and modeling of colour changes of red pepper (*Capsicum annuum* L.) during hot air drying. *Journal of Food Engineering*, 231, 101–108. <https://doi.org/10.1016/j.jfoodeng.2018.03.013>
- Zare, M., Namratha, K., Byrappa, K., Surendra, D. M., Yallappa, S., & Hungund, B. (2018). Surfactant assisted solvothermal synthesis of ZnO nanoparticles and study of their antimicrobial and antioxidant properties. *Journal of Materials Science & Technology*, 34(6), 1035–1043. <https://doi.org/10.1016/j.jmst.2017.09.014>
- MELÉNDREZ, M.F., CÁRDENAS, G., DÍAZ V, J., CRUZAT C, C., ARBIOL, J., DÍAZ, J. V., CRUZAT, C.C. y ARBIOL, J., 2009. Synthesis and aggregation study of tin nanoparticles and colloids obtained by chemical liquid deposition. *Colloid and Polymer Science* [en línea], vol. 287, no. 1, pp. 13-22. ISSN 0303-402X. DOI 10.1007/s00396-008-1950-7. Disponible en: <http://link.springer.com/10.1007/s00396-008-1950-7>.
- VERNON-CARTER, E.J., ALVAREZ-RAMIREZ, J., BELLO-PEREZ, L.A., REYES, I. y HERNANDEZ-JAIMES, C., 2019. Inhibition of the amylolytic hydrolysis of starch by ethanol. *Food Hydrocolloids* [en línea], vol. 90, no. August 2018, pp. 285-290. ISSN 0268005X. DOI 10.1016/j.foodhyd.2018.12.046. Disponible en: <https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2018.12.046>.

¹ Saca Zúñiga Juan Carlos² Segarra Urgiléz Andrea Estefanía